

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**SELECCIÓN DE AISLAMIENTOS DE *Beauveria bassiana* PARA EL
CONTROL BIOLÓGICO DE *Xyleborus affinis* VECTOR DEL HONGO
Raffaelea lauricola, PLAGAS POTENCIALMENTE RIESGOSAS PARA EL
CULTIVO DE AGUACATE *Persea americana* EN MÉXICO**

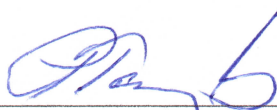
**POR
JESÚS ENRIQUE CASTREJÓN ANTONIO**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN MICROBIOLOGÍA**

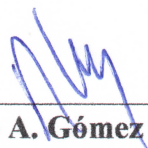
MARZO, 2020

**SELECCIÓN DE AISLAMIENTOS DE *Beauveria bassiana* PARA EL
CONTROL BIOLÓGICO DE *Xyleborus affinis* VECTOR DEL
HONGO *Raffaelea lauricola*, PLAGAS POTENCIALMENTE RIESGOSA
PARA EL CULTIVO DE AGUACATE, *Persea americana* EN MÉXICO.**

Comité de Tesis



Dra. Patricia Tamez Guerra
Director de tesis



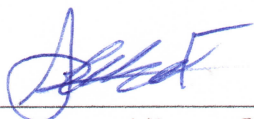
Dr. Ricardo A. Gómez Flores
Secretario



Dra. María Julissa Ek Ramos
Vocal



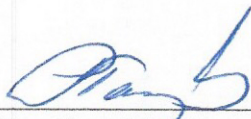
Dr. José Alberto Valadez Lira
Vocal



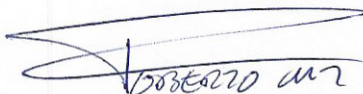
Dr. Alonso Alberto Orozco Flores
Vocal

**SELECCIÓN DE AISLAMIENTOS DE *Beauveria bassiana* PARA EL
CONTROL BIOLÓGICO DE *Xyleborus affinis* VECTOR DEL
HONGO *Raffaelea lauricola*, PLAGAS POTENCIALMENTE RIESGOSA
PARA EL CULTIVO DE AGUACATE, *Persea americana* EN MÉXICO.**

Dirección de Tesis



Dra. Patricia Tamez Guerra
Directora



Dr. Roberto Montesinos Matías
Director externo

AGRADECIMIENTOS

- A la Dra. Paty Tamez Guerra: por la confianza sembrada en mi, por alentarme a concluir esta etapa de mi vida. Es sin duda su ejemplo el mejor regalo que, sin darse cuenta, me ha otorgado a lo largo de todos estos años que tengo el placer de conocerla. Por siempre estaré agradecido con usted.
- Al Dr. Roberto Montesinos: por abrirme las puertas del laboratorio a su cargo y darme la oportunidad de expresarme libremente en él a través del trabajo científico. Agradezco 4 años en los que me ha transmitido su experiencia y consejos, pero sobre todo su gran amistad.
- Al M.C. Hugo C. Arredondo Bernal: Agradezco enormemente la confianza y oportunidades que me ha venido otorgado desde hace ya mucho tiempo, confiando en mis capacidades y habilidades. Espero seguir contando con su amistad por mucho tiempo más.
- Al M.V.Z. Nazario y a la comunidad del Consejo Estatal de Productores de Papaya el estado de Colima, por permitirme seguir adelante con mi preparación profesional.
- A la Dra. Ana Lilia Peraza Campos: porque sin su ayuda esto no hubiera podido ser concebido. Gracias por estar siempre, cual constante en una función.
- A la Dra. Julissa y al Dr. Ricardo Flores por el apoyo brindado durante la preparación de mis manuscritos, sus observaciones, comentarios y apoyo técnico fue sin duda elemento clave para llevar este barco a buen término.
- Al CONACyT por el otorgamiento de la beca que me permitió cumplir una meta académica más.

DEDICATORIA

A mis hijos:

Leonardo y Aramís

A ustedes les digo: el trabajo constante y dedicado no tiene otro fin mas que el éxito. Dios nos abre caminos y pone a las personas apropiadas para cumplir nuestros objetivos.

A mi esposa:

Jessica

Que las metas cumplidas de uno se conviertan en éxitos de ambos.

A mis padres

Lucia y Adán

Por darme lo necesario para poder formarme a mi mismo, por no ponerme limitantes, ni límites. Que Dios me de vida para poder compensarles.

ÍNDICE

I.- Introducción	1
II.- Antecedentes	3
III.- Justificación	12
IV.- Hipótesis	13
V.- Objetivo del trabajo	13
VI.- Material y Métodos	14
VII.-Resultados y Discusión	29
VIII.- Conclusiones	52
IX.- Perspectivas	53
X.- Bibliografía	54
XI.-Resumen bibliográfico	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Raffaelea lauricola</i> .	6
Tabla 2. Variables evaluadas en la primera fase de selección de <i>Beauveria bassiana</i> .	30
Tabla 3. Coeficientes de correlación entre las variables analizadas (etapa inicial de selección) y los componentes principales extraídos.	31
Tabla 4. Agrupación de las cepas de <i>Beauveria bassiana</i> de acuerdo a las variables medidas.	32
Tabla 5. Variables evaluadas en la segunda fase de selección de <i>Beauveria bassiana</i> .	34
Tabla 6. Coeficientes de correlación entre las variables analizadas (segunda etapa de selección) y los componentes principales extraídos.	34
Tabla 7. Virulencia de cuatro cepas de <i>Beauveria bassiana</i> contra hembras de <i>Xyleborus affinis</i> .	38
Tabla 8. Mortalidad de hembras de <i>Xyleborus affinis</i> inoculadas mediante inmersión y en dieta artificial.	42
Tabla 9. Número de larvas de <i>Xyleborus affinis</i> desarrolladas en dieta artificial a partir de hembras infestadas con <i>Beauveria bassiana</i> .	43
Tabla 10. Número de huevos de <i>Xyleborus affinis</i> desarrollados en dieta artificial a partir de hembras infestadas con <i>Beauveria bassiana</i> .	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Árbol de aguacate.	3
Fig. 2. Fruto del aguacate.	3
Fig. 3. Vista dorsal y lateral de una hembra de <i>Xyleborus glabratus</i> .	6
Fig. 4. Conidios y conidioforos de <i>Rafaellea lauricola</i> .	7
Fig. 5. Vista dorsal y lateral de una hembra de <i>Xyleborus affinis</i> .	11
Fig. 6. Sitio de conteo en la cámara de Neubauer.	15
Fig. 7. Torre de Potter.	22
Fig. 8. Viales de ensayo con un trozo de dieta artificial.	22
Fig. 9. Cámara húmeda para bioensayo.	23
Fig. 10. Prueba de gota en agua para determinar el tipo de emulsión.	27
Fig. 11. Relaciones entre las variables, componentes (CP1 vs CP2) y distribución de cepas de <i>Beauveria bassiana</i> en la etapa de selección inicial.	31
Fig. 12. Relación entre las variables, componentes (CP1 vs CP3) y distribución de cepas de <i>Beauveria bassiana</i> en la etapa de selección inicial.	32
Fig. 13. Relaciones entre las variables, componentes (CP1 vs CP2) y distribución de cepas de <i>Beauveria bassiana</i> en la segunda etapa de selección.	35
Fig. 14. Árbol de aguacate con presencia de virutas de aserrín en su corteza.	36
Fig. 15. Madera de árbol de aguacate con galerías y adultos de <i>Xyleborus</i> sp.	36
Fig. 16. Hembra de <i>Xyleborus affinis</i> .	37

Fig. 17. Bioensayos con <i>Xyleborus affinis</i> .	39
Fig. 18. Conidios adheridos a la superficie de hembras de <i>Xyleborus affinis</i> inoculadas con diferentes dosis de <i>Beauveria bassiana</i> .	45
Fig. 19. Cinética de viabilidad de <i>Beauveria bassiana</i> formulada en una emulsión invertida a 25 °C.	47
Fig. 20. Mortalidad de hembras de <i>Xyleborus affinis</i> con formulados de <i>Beauveria bassiana</i> sobre una emulsión invertida.	48
Fig. 21. Número de huevos de <i>Xyleborus affinis</i> presentes en dieta artificial a partir de hembras infestadas con formulados de <i>Beauveria bassiana</i> .	48
Fig. 22. Número de larvas de <i>Xyleborus affinis</i> presentes en dieta artificial a partir de hembras infestadas con formulados de <i>Beauveria bassiana</i> .	49
Fig. 23. Número de conidios por insecto en los tratamientos evaluados.	51

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

ACP	Análisis de Componentes Principales
ANDEVA	Análisis de Varianza
C:N	Relación Carbono: Nitrógeno
CNRCB	Centro Nacional de Referencia de Control Biológico
CHE	Colección de Hongos Entomopatógenos
CP	Componente Principal
HEP	Hongos Entomopatógenos
MEI	Medio Estándar de Inducción
PDA	Agar Papa Dextrosa
SDYA	Agar Sabouraud Dextrosa enriquecido con extracto de levadura
SM	Solución madre

RESUMEN

Xyleborus affinis es un escarabajo ambrosial con una amplia distribución mundial. En México se le reconoce como escarabajo nativo y aunque es considerado de bajo riesgo fitosanitario, recientemente se han intensificado su estudio, debido a su presencia recurrente en árboles de aguacate en producción. Además, hay evidencias científicas sobre su capacidad de portación y transmisión del hongo fitopatógeno *Raffaelea lauricola* que ha puesto en riesgo la biodiversidad vegetal de lauráceas en E.E.U.U. Los hongos entomopatógenos (HEP) representan una estrategia de biocontrol que pueden favorecer el manejo integrado de escarabajos ambrosiales como *X. affinis*. En este trabajo se realizó una selección de cepas de *Beauveria bassiana* mediante la caracterización de sus perfiles de crecimiento y de factores de virulencia. Posteriormente estas cepas se evaluaron mediante bioensayos en *X. affinis* bajo diferentes esquemas de inoculación: aspersión, inmersión y superficie contaminada con *B. bassiana*. Además, se determinó el efecto sobre la progenie, de hembras infestadas por inmersión. Se desarrolló una formulación por emulsión invertida con dos cepas de *B. bassiana*, evaluando su compatibilidad y su actividad sobre hembras de *X. affinis* en ensayos de superficie contaminada. A partir de 19 cepas de *B. bassiana* fueron seleccionadas cuatro (CHE-CNRCB 44, 171, 431 y 485) que presentaron fenotipo de crecimiento y factores de virulencia favorables. Las cepas de *B. bassiana* seleccionadas causaron una mortalidad entre el 40 y el 58% a hembras de *X. affinis*, con el método de aspersión. En colonias de hembras infestadas con los HEP, no se observaron diferencias estadísticas significativas en el número de huevos y larvas, en relación con el testigo. Las cepas CHE-CNRCB 44 y 485 se formularon por emulsión invertida a base de aceite vegetal y de coco, mostrando una compatibilidad máxima del 30% a los 7 días a 25°C, sin lograr un incremento de su virulencia. Los HEP representan una alternativa en el manejo integrado de escarabajos ambrosiales. Su implementación requiere de ensayos en laboratorio mediante superficie contaminada y dieta artificial para determinar el impacto real que podrían generar en campo.

SUMMARY

Xyleborus affinis is an ambrosia beetle with a wide worldwide distribution. In Mexico it is recognized as a native beetle and although it is considered of low phytosanitary risk, its study has recently been intensified, due to its recurrent presence in avocado trees in production. In addition, there is scientific evidence on its carrying capacity and transmission of the phytopathogenic fungus *Raffaelea lauricola* that has put at risk the plant biodiversity of lauraceae in the U.S. Entomopathogenic fungi (HEP) represent a biocontrol strategy that can favor the integrated management of ambrosia beetles such as *X. affinis*. In this work a selection of *Beauveria bassiana* strains was made by characterizing their growth profiles and virulence factors. Subsequently, these strains were evaluated by bioassays in *X. affinis* under different inoculation schemes: spray, immersion and surface contaminated with *B. bassiana*. In addition, the effect on the progeny of females infested by immersion was determined. An inverted emulsion formulation was developed with two strains of *B. bassiana*, evaluating its compatibility and activity on females of *X. affinis* in contaminated surface tests. From 19 strains of *B. bassiana*, four were selected (CHE-CNRCB 44, 171, 431 and 485) that presented favorable growth phenotype and virulence factors. The selected *B. bassiana* strains caused a mortality between 40 and 58% to females of *X. affinis*, with the spray method. In colonies of females infested with HEP, no significant statistical differences were observed in the number of eggs and larvae, in relation to the control. The CHE-CNRCB 44 and 485 strains were formulated by inverted emulsion based on vegetable and coconut oil, showing a maximum compatibility of 30% at 7 days at 25°C, without achieving an increase in virulence. The HEP represent an alternative in the integrated management of ambrosia beetles. Its implementation requires laboratory tests using contaminated surface and artificial diet to determine the real impact they could generate in the field.

I. INTRODUCCIÓN

México es el principal productor de aguacate del mundo, con un aporte mayor al 30% de la producción mundial, siendo el estado de Michoacán el que aporta la mayor cantidad de producto. Esta actividad genera más de 16,800 empleos fijos al año y hasta 70,000 empleos temporales; con una derrama económica de 750 millones de pesos al año.

Debido la importancia que representa el aguacate en México, el Gobierno Federal a través de la Dirección General de Sanidad Vegetal del SENASICA, mantiene en operación el Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria (PVEF, <https://prod.senasica.gob.mx/SIRVEF/#divVEF>), mediante el cual se establecen estrategias operativas que tienen la finalidad de detectar oportunamente la incursión de plagas y enfermedades cuarentenarias en cualquier parte del territorio. Específicamente, a partir del 2012 se ha monitoreado la detección de complejos de escarabajos ambrosiales exóticos, como el escarabajo ambrosia del laurel rojo, *Xyleborus glabratus* Eichoff, que se relaciona simbióticamente con el hongo *Raffaelea lauricola* T. C. Harr., Fraedrich & Aghayeva, considerado de alto riesgo por la marchitez que ocasiona en árboles de la familia Lauraceae. Dicha plaga se reportó en los E.E.U.U. desde el año 2012 y ha venido mostrando una considerable movilidad dentro de ese país, sobre todo en zonas aguacateras, donde se ha logrado constatar el impacto negativo que tiene sobre la agricultura y la biodiversidad de Lauráceas.

Por otra parte, las investigaciones con *X. glabratus* han puesto al descubierto la importancia de escarabajos nativos de aquellos lugares donde se ha establecido. Algunos escarabajos nativos tienen el potencial de portar y transmitir a *R. lauricola*, convirtiéndolos en un factor adicional de dispersión que magnifica el riesgo a la biodiversidad de árboles nativos susceptibles al mismo.

Hasta hoy, el uso de insecticidas químicos pareciera una de las principales opciones para el control de *X. glabratus*, en el hipotético caso de que este insecto lograra introducirse a México, o bien que alguno de los escarabajos ambrosiales nativos se convirtiera en un problema fitosanitario. Sin embargo, la comercialización al extranjero que tiene el aguacate, restringe la aplicación de pesticidas, reduciéndose el espectro de productos utilizables en el cultivo. Ante este escenario, el control biológico surge como

alternativa sustentable para incorporarse en los programas de manejo de escarabajos ambrosiales, como es el caso del programa de Manejo Fitosanitario de los Ambrosiales en Baja California, México (<https://www.gob.mx/senasica/documentos/estrategia-operativa-ambrosiales?state=published>), que inició en el año 2018.

La susceptibilidad de escarabajos ambrosiales con HEP ha sido ampliamente documentada. Siendo *Beauveria bassiana* la especie ideal debido a su potencial infeccioso y de virulencia, a su facilidad de producción en grandes cantidades y su adaptabilidad a las condiciones ambientales donde están activos los escarabajos.

El presente trabajo pretende abordar diversos elementos del proceso general que se lleva a cabo para la selección de HEP candidatos para programas de manejo de plagas, como son la caracterización fisiológica, bioquímica y de factores de virulencia, seguido de ensayos en laboratorio que permiten predecir el posible impacto en el campo y pueden aportar información sobre las estrategias técnicas de aplicaciones de los HEP.

De igual forma el presente trabajo pretende sentar bases sobre el trabajo experimental con escarabajos ambrosiales y agentes de control biológico.

II. ANTECEDENTES

2.1. Cultivo de aguacate

El aguacate (*Persea americana* Mill) es una planta endémica de continente americano, pertenecientes a la familia de las Lauráceas. Se reporta que su origen ocurrió en las partes altas del centro y éste de México y las partes altas de Guatemala. Su nombre proviene del náhuatl “Ahuacatl”, palabra que significa “testículos del árbol” (Williams 1977; Reener 1999, Landon 2009).

Es un árbol de tronco grueso, follaje denso y hojas perenne. Puede alcanzar dimensiones de hasta 20 m, no obstante, en su producción no se le permite superar los 5 m, con la finalidad de facilitar los manejos y cuidados requeridos (Fig. 1). Su fruto es una drupa comúnmente periforme, que suele presentar una gran variedad de colores de piel y textura de su pulpa. Ésta suele ser verde amarillenta y envuelve una semilla central grande (Fig. 2) (Galindo-Tovar *et al.* 2012).



Fig. 1. Árbol de aguacate.



Fig. 2. Fruto del aguacate.

Los cultivos de aguacate se clasifican en 3 razas botánicas, el Mexicano (var. *drymifolia*), el Guatemalteco (var. *guatemalensis*) y el Antillana (var. *americana*), de los cuales se han generado diversas cantidad de híbridos y más de 400 cultivares, siendo el Hass el de mayor impacto en el comercio, dado su productividad y resistencia al manejo comercial (Barrientos-Priego 2012).

México es el principal productor de aguacate del mundo, con una superficie sembrada aproximada de 235,317 hectáreas y un aporte mayor al 30% de la producción

mundial (SIAP 2019a; SIAP 2019b). El 57% del volumen generado es por temporal y el 43% restante es de riego, con rendimientos de hasta de 10.6 y 14.3 ton/ha, respectivamente (SIAP 2019a). De 27 estados productores en el país, Michoacán es el que aporta la mayor cantidad de aguacate. Las cifras hasta agosto de 2019, indican que se han cultivado 1,136, 243 ton en dicho estado lo que representa el 80% de la producción nacional. Otros estados como Jalisco, México, Nayarit y Morelos han aportado, entre el 3 y el 6% de la producción (SIAP 2019a).

2.2 Insectos plaga del aguacate

Existe el reporte de una gran variedad de especies de invertebrados considerados como plagas para el aguacate incluyendo ácaros tetránquidos del género *Oligonychus* y *Eutetranychus*; lepidópteros, trips, coleópteros, hemípteros y algunos dípteros (Cambero *et al.* 2010; Palacios *et al.* 2011; Chávez *et al.* 2017). Aunque muchos de ellos tienen presencia en los cultivos del país, no todos representan el mismo riesgo. Muestra de ello es la Norma Oficial Mexicana NOM-066-FITO-2002 que establece los requisitos y especificaciones para el manejo fitosanitario de cinco plagas en el cultivo de aguacate que involucran al barrenador pequeño del hueso, *Conotrachelus aguacatae* Barber y *C. perseae* Barber (Coleoptera: Curculionidae), el barrenador grande del hueso, *Heilipus lauri* Boheman (Coleoptera: Curculionidae), el barrenador de ramas *Copturus aguacatae* Kissinger (Coleoptera: Curculionidae) y la palomilla barrenadora del hueso del aguacate, *Stenoma catenifer* Walsingham (Lepidoptera: Oecophoridae).

No obstante, y sin restarle la importancia que representan los cinco insectos anteriormente mencionados hay que destacar la existencia de otros, que si bien no se encuentran presentes en el país, representan un problema potencial para la producción de aguacate. Tal es el caso del escarabajo ambrosial *Xyleborus glabratus* Eichhoff (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), vector del hongo patógeno *Raffaelea lauricola* T.C. Harr., Fraedrich & Aghayeva (Ophistomatales: Ophiostomataceae), que ocasiona la enfermedad denominada “marchitez del laurel”, una enfermedad vascular responsable de una alta mortalidad del laurel rojo, *Persea borbonia* (L.) Spreng, en el sureste de los E.E.U.U desde 2003, expandiéndose la enfermedad a diversos árboles nativos pertenecientes a la familia de las Lauráceas, como lo es el aguacate (Crane y Peña 2008).

2.2.1 Escarabajos ambrosiales

Los escarabajos ambrosiales son un grupo complejo de coleópteros agrupados en diversas tribus. Son conocidos comúnmente por atacar arboles leñosos que están estresados o muriendo. No obstante lo anterior, existen especies de escarabajos ambrosiales con predilección por atacar árboles sanos, éstos son, desde luego, los de mayor importancia fitosanitaria (Mayfield *et al.* 2008).

De manera típica, los escarabajos tienen una relación simbiótica con algún hongo, el cual transportan en órganos especializados, llamados micangios, y cultivan en las plantas que atacan (Hulcr *et al.* 2012). Cuando un escarabajo perfora la corteza de la planta, forma galerías en la albura, e inocula las esporas del hongo transportado. Una vez que el hongo germina sirve de alimento tanto al adulto como a las larvas de los escarabajos. El hongo afecta a las plantas de manera sistémica generando obstrucción del flujo de agua y nutrientes, ocasionando marchites regresiva del follaje, defoliación (aunque algunas hojas pueden mantenerse fijas al árbol por varios meses) así como un oscurecimiento de la albura del árbol, pasando de un color marrón rojizo a azul grisáceo (Harrington *et al.*, 2008; Inch and Ploetz 2012; Ploetz *et al.* 2012).

En México se han reportado 230 especies de escarabajos ambrosiales incluyendo 43 especies de *Platypodinae* y 187 especies de *Scolytinae*, principalmente en las tribus *Corthylini* (132 especies) y *Xyleborini* (49 especies) (Atkinson 2015). La mayoría de las especies se encuentran limitadas geográficamente en las llanuras costeras del Golfo de México, siendo muy pocas las especies que están distribuidas ampliamente. A pesar de que en el Este de los E.E.U.U. se ha presentado un gran número de introducciones de escarabajos ambrosiales, procedentes de Asia, muy pocos se han establecido en México. Lo anterior se explica, aparentemente, a que los matorrales xerófitos del sur de Texas y del Norte de Tamaulipas forman una barrera natural contra su dispersión (Atkinson 2014).

2.2.2 *Xyleborus glabratus*

Es un escarabajo endémico del sur-este del continente asiático, cilíndrico, alargado de aproximadamente 2 mm de longitud (Fig. 3), conocido como escarabajo ambrosial del laurel rojo (Tabla 1). Es un insecto de desarrollo completo. El adulto

presenta dimorfismo sexual, siendo el macho de menor tamaño que la hembra, la cual tiene la mayor capacidad de vuelo (Maner *et al.* 2013).

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Raffaelea lauricola* *

Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Sordiaromycetes
Orden	Ophiostomatales
Familia	Ophiostomataceae
Género	<i>Raffaelea</i>
Especie	<i>lauricola</i>

*Catalogue of Life: 2019 Annual Checklist

Dos características importantes de *X. glabratus* es su alta preferencia por atacar arboles leñosos, jóvenes de la familia de las lauráceas y porque el hongo simbionte que transporta, *Raffaelea lauricola*, frecuentemente ocasiona la muerte del árbol (Peña *et al.* 2012). Su descubrimiento en el continente americano se dio en los E.E.U.U. en el año 2002 en Port Wentworth, Georgia E.U. Desde entonces, se ha dispersado al norte y sur de Carolina, Alabama, Mississippi y Florida (Harrington *et al.* 2008; Formby *et al.* 2012; Rodger *et al.* 2014), considerándosele una plaga invasiva seria que afecta tanto la agricultura como a los ecosistemas forestales.



Fig. 3. Vista dorsal y lateral de una hembra de *Xyleborus glabratus*.
Créditos: Jorge Valdés Carrasco-Colegio de Posgraduados 2012.

2.2.3 *Raffaelea lauricola*

Raffaelea lauricola es el patógeno causante de la marchitez del laurel, el cual es originario de Asia. Se trata de un hongo ascomiceto asexual que comúnmente produce pequeños conidióforos en delgados cluster's (esporodoquios). Sus conidios son pequeños, hialinos y pleomórficos (elípticos, ovales, globosos, Fig. 4) (Harrington *et al.* 2008).

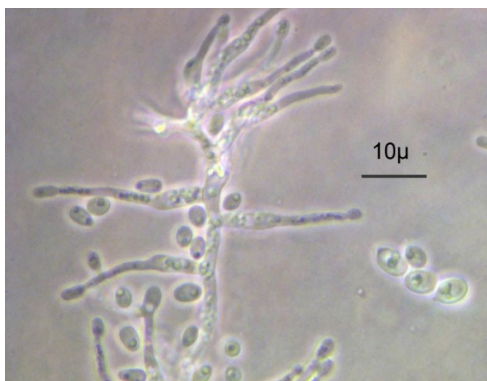


Fig. 4. Conidios y conidioforos de *Raffaelea lauricola*.
Créditos: Stephen W. Freadrich/United States Forest Service (USFS), 2007.

Una vez que el hongo es inoculado en un árbol sano, es capaz de dispersarse a través del sistema vascular y bloquear el transporte de agua, generando marchitez y la muerte en pocos meses (Harrington *et al.* 2008). Aunque al día de hoy se considera a *X. glabratus* como el vector principal de *R. lauricola* (simbiosis que suele denominarse “complejo ambrosial del laurel rojo”), Harrington y Fraedrich (2010) aislaron el hongo de *Xyleborinus axeseni* (Ratzeburg) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) un escarabajo encontrado en árboles de pondberry, *Lindera melissifolia* (Walter) Blume. Y trabajos más recientes demuestran su presencia en escarabajos del género *Xyleborus*, nativos de las zonas aguacateras de E.E.U.U. donde se ha establecido *X. glabratus* (Ploetz *et al.* 2017; Saucedo *et al.* 2018)

2.3 Introducción y riesgo potencial del complejo ambrosial del laurel rojo en México

Bocanegra (2012) mediante un Análisis de Riesgo por Plaga, concluye que el complejo *Xyleborus glabratus*-*Raffaella lauricola* son plagas cuarentenarias para México, con alto potencial de ocasionar importantes pérdidas económicas, con lo que se clasifican de alto riesgo.

A pesar de que las estrategias actuales de monitoreo fitosanitario han permitido considerar al país como libre del complejo ambrosia del laurel rojo (SIRVEF 2019), su introducción en el país está influenciada por una serie de factores, entre otros, de tipo ecológico y comercial. El primero de ellos está representado por la diversidad de especies de lauráceas que potencializan el riesgo de trasiego y establecimiento de la plaga en el territorio. Se han descrito 10 géneros de la familia de las lauráceas: *Aiouea*, *Beilschmiedia*, *Cassytha*, *Cinnamomum*, *Licaria*, *Litsea*, *Mocinnodaphne*, *Nectandra*, *Ocotea* y *Persea*, cuya mayor abundancia y diversidad se encuentra en los estados de Chiapas, Oaxaca y Veracruz. Aunque hasta ahora no se ha descrito que todos los géneros anteriores sean susceptibles al ataque de *X. glabratus*, no hay que descartar su potencial adaptabilidad (Hanula *et al.* 2018).

En Tamaulipas, por otra parte, se tiene el reporte de la presencia del laurel rojo, *Persea borbonia*, considerada la especie más susceptible al ataque de *X. glabratus* (Peña *et al.* 2012).

El empleo de madera en el material de embalaje de productos introducidos al país, procedentes de lugares con presencia del complejo ambrosial (principalmente Asia), potencializa el riesgo de una introducción accidental, tal como se cree, ocurrió en los E.E.U.U (Hanula *et al.* 2018).

Además de la vulnerabilidad de los ecosistemas de lauráceas, quizá, el riesgo más importante para México, lo representa el cultivo de aguacate. Por el impacto económico que éste fruto genera en el país. En E.E.U.U. la marchitez del laurel se detectó en sistemas de producción de aguacate en el sur de Florida en febrero del 2012 y desde entonces, cerca de 6,000 árboles de aguacate han sido destruidos (Carrillo *et al.* 2014). El daño se percibe en la disminución de la venta de producto e incremento en los costos de producción.

2.4 Control de *Xyleborus glabratus*

En E.E.U.U. se han adoptado diversas estrategias que tienen como objetivo evitar la dispersión y el establecimiento en nuevos lugares por parte de *X. glabratus*. Dichas estrategias se basan en el control cultural y regulatorio, restringiendo la movilización de material vegetal propagativo, leña y material de embalaje tanto de laurel rojo como de otros hospedantes del escarabajo (SENASICA 2018).

Por su parte, las autoridades sanitarias de México han generado campañas enfocadas en el monitoreo de zonas de riesgo y en el resguardo de las zonas fronterizas por donde el insecto puede ingresar, ya sea por medio de productos o subproductos de madera, proveniente de países con presencia del mismo (SENASICA 2015).

2.4.1 Control químico de *X. glabratus*

El control del vector *X. glabratus*, representa una de las estrategias para reducir la dispersión de *R. lauricola*. Se conoce sobre la susceptibilidad de los insectos a la cipermetrina+ bifentrina, malatión y fenpropatrina como insecticidas de contacto hasta por dos semanas después de la aplicación (Carillo *et al.* 2013, Crane *et al.* 2011).

En México el complejo *Xyleborus glabratus-Raffaella lauricola*, esta ausente, sin embargo el SENASICA cuenta con un plan de manejo en caso de que se introduzca al país. En dichos planes la recomendación vigente al año 2019 es la de empleo de malatión, permetrina, lambda cialotrina, tiametoxam, y zeta-cipermetrina (SENASICA 2016).

2.4.2 Control biológico como alternativa preventiva de *X. glabratus*

Una alternativa al empleo de productos químicos y que puede representar una herramienta más para el control del vector de *R. lauricola* es el control biológico, ya sea mediante el empleo de parasitoides, depredadores o de agentes entomopatógenos.

Aunque no se conoce con claridad las especies de insectos parasitoides o depredadores que pueden estar asociados con *X. glabratus*, en un estudio realizado por Peña *et al.* (2012), en Florida, se encontraron parasitoides potenciales para el control de Scolytinae, pero no de depredadores (Peña y Carillo 2012).

Por otra parte Carillo *et al.* (2015) reportan la susceptibilidad de *X. glabratus* a tres cepas comerciales de HEP: dos aislamientos de *Isaria fumosorosea* y una de *Beauveria bassiana*, demostrando el potencial que tienen dichos agentes en el control del vector de *R. lauricola*.

2.5 Escarabajos ambrosiales nativos

A pesar de que el riesgo fitosanitario actual está centrado en escarabajos ambrosiales que han sido introducidos al continente americano como *X. glabratus* y el

complejo *Euwallace fornicatus sensu lato*, se ha puesto de manifiesto la importancia que representan las especies de escarabajos nativos en la propagación de la marchitez del laurel (Gomez *et al.* 2018). Ensayos de laboratorio realizados en Florida, E.E.U.U., detectaron escarabajos como *Xyleborus affinis*, *Xyleborus ferrugineus* (Fabricius), *Xyleborinus gracilis* Wood & Bright y *Xyleborus volvulus* (Fabricius), como portadores de *R. lauricola* (Carrillo *et al.* 2014b). Pero, exploraciones en campo como las realizadas por Ploetz *et al.* (2017), aislaron dicho hongo en por lo menos 14 especies de escarabajos ambrosiales y barrenadores de 6 géneros, los cuales se encontraron asociados a *X. glabratus* en árboles afectados por marchitez del laurel. Por su parte, Saucedo-Carabez *et al.* (2018) encontraron la presencia de *R. lauricola* en *X. affinis*, *Xyleborus bispinatus* Eichhoff y *X. volvulus* que se encontraban en árboles de aguacate asociados con *X. glabratus*.

Lira-Noriega *et al.* (2018) concluyeron que la presencia y distribución de especies nativas de *Xyleborus* en México facilitarían la propagación de *R. lauricola* en caso de introducirse *X. glabratus*.

En el estado de Colima, México Castrejón *et al.* (2017b, 2018) reportaron plantas con signos de marchitez regresiva generados en árboles de aguacate y de mango asociados a daño con *X. affinis* y *X. volvulus*. Mientras que Angeles-Restrepo *et al.* (2019) describieron la presencia de *X. affinis*, *X. volvulus*, *X. ferrugineus*, *Monarthrum conversum* Wood, *M. exoratum* (Schedl), *M. fimbriaticorne* (Blandford), *Euplatypus segnis* (Chapuis), *E. otiosus* (Schedl), *Corthylus flagellifer* Blandford, *C. detrimmentosus* Schedl, *Corthylocurus aguacatensis* (Schedl) y a *Amphicranus filiformis* Blandford en árboles de aguacate en Michoacán, con signos de cancro, un factor de estrés primario.

2.5.1 *Xyleborus affinis*

Se trata de un escarabajo ambrosial de distribución mundial y uno de los más comunes en los ecosistemas; es nativo de las regiones tropicales y subtropicales de America (Sobel *et al.* 2015). En México se ubica en casi la totalidad de su territorio (Perez-Silva *et al.* 2015). Presenta un desarrollo completo, dimorfismo sexual en su etapa adulta, siendo el macho de menor tamaño que la hembra, siendo la que presenta la mayor capacidad de vuelo (Wood 1982) (Fig. 5).



Fig. 5. Vista dorsal y lateral de una hembra de *Xyleborus affinis*.
Créditos: J. Hulcr, Universidad de Florid, 2012

Aunque actualmente *X. affinis* no es reconocida como una plaga primaria, se tiene reporte del insecto atacando árboles de Macadamia (*Macadamia integrifolia*) en Hawai y plantaciones de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en Cuba (Chang 1993; Giro 2003). Morales *et al* (2000) lo reporta como potencialmente peligrosa para el eucalipto brasileño .

Como se describió anteriormente, Angel-Restrepo *et al.* (2019), reporta que *X. affinis* fue la especie de escarabajo ambrosial con mayor presencia en árboles de aguacate con un factor de estrés primario como lo es el cancro. Aunado a la evidencia científica de su capacidad de transportar unidades infectivas de *R. lauricola*, esta especie se convierte en un factor de riesgo importante en la dispersión de la marchites de laurel en México.

III. JUSTIFICACIÓN

Dada la importancia que representa el cultivo de aguacate para la economía del país, es prioritario desarrollar e implementar estrategias que permitan no solo prevenir, sino controlar escarabajo ambrosiales exóticos, como *X. glabratus*, sino también nativos como *X. affinis*, por el impacto que pueden llegar a generar en árboles de aguacate en producción.

Los HEP son una herramienta sustentable, ecológica y de bajo riesgo a la salud humana que deben de ser considerados para el control de las poblaciones del escarabajo ambrosiales. Está ampliamente documentado el efecto benéfico de este tipo de microorganismos en el control de plagas agrícolas. Su efecto puede llegar a ser residual, debido a su capacidad de permanecer en el suelo, propiciando etapas cíclicas de infección, bajo las condiciones adecuadas. Su bajo efecto tóxico para otros organismos vivos, entre ellos los humanos e insectos polinizadores, los hace un insecticida adecuado que además presenta nulo impacto sobre mantos freáticos, a diferencia de los insecticidas químicos. De igual forma, los HEP forman parte de las estrategias de manejo integrado de plagas (MIP) que se implementan con los planes fitosanitario de cultivos orgánicos, lo que se alinea considerablemente a los requerimientos internacionales de reducción de uso de plaguicidas en los cultivos.

En México aún no se dispone de HEP, cuyo efecto biológico sobre *X. affinis* se haya documentado; de tal forma que la investigación de diversos hongos nativos, permitirá seleccionar aquellos con mayor potencial para poder, ser utilizados en un futuro.

IV. HIPÓTESIS

El Centro Nacional de Referencia en Control Biológico (CNRCB) posee dentro de su colección de hongos entomopatógenos, al menos un aislamiento de *Beauveria bassiana* con actividad insecticida para el control de adultos de *Xyleborus affinis*.

V. OBJETIVOS DEL TRABAJO

General

Seleccionar, caracterizar y evaluar el potencial de aislamientos de *B. bassiana*, provenientes de la colección de hongos entomopatógenos del CNRCB, contra el escarabajo *X. affinis*.

Específicos

- Establecer una colonia de *Xyleborus affinis*.
- Caracterizar diversos aislamientos de *B. bassiana* de la Colección de Hongos Entomopatógenos del CNRCB de acuerdo a sus perfiles de crecimiento.
- Determinar el patrón de factores de virulencia (enzimas degradadoras de cutícula) de aquellos aislamientos de *B. bassiana* que presenten fenotipos de crecimiento sobresalientes.
- Realizar pruebas de virulencia sobre el escarabajo modelo *X. affinis* de los aislamientos seleccionados con mejores atributos de virulencia.
- Evaluar el efecto del tratamientos con HEP sobre la progenie de hembras de *X. affinis*.
- Elaborar una emulsión invertida para su formulación con *B. bassiana* y posterior evaluación contra hembras de *X. affinis*.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Cepas de *Beauveria bassiana*

Se partió de un banco de cepas poliespóricas de *B. bassiana* ubicados en la colección de hongos entomopatógenos (CHE) del Centro Nacional de Referencia en Control Biológico (CNRCB), en su mayoría obtenidos de la broca del café, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Scolytinae) (Anexo 1).

Todos los aislados procedieron de stocks de gel de sílice, conservados a 4 °C y se activaron en cajas de Petri que contenían agar Sabouraud dextrosa enriquecido con extracto de levadura a la cuarta (SDAY/4) (Anexo 2.1), las cuales se incubaron a 25 °C durante 20 d.

6.2 Reactivación de cepas *in vivo*

Algunos aislamientos se reactivaron en *Tenebrio molitor* (Coleoptero: Tenebrionidae) para promover su actividad biológica, debido que habían pasado por diversas reciembras en medios de cultivo. Los aislados que contaban únicamente con una reciembra no se consideraron para este tipo de procedimiento previo.

6.3 Selección de cepas

6.3.1 Patrón fenotípico de crecimiento

Se evaluaron cuatro parámetros de crecimiento para cada hongo: tasa de crecimiento (mm día^{-1}), producción de conidios (conidios mm^{-2}), germinación (%), longitud de tubo germinativo (mm). Estos parámetros se midieron haciendo crecer al hongo en el medio Agar dextrosa Sabouraud enriquecido con extracto de levadura (SDAY) (Anexo 2.2).

6.3.1.1 *Conteo de propágulos*

Durante el trabajo experimental se realizaron determinaciones de las concentraciones de conidios, tanto para inocular medios de cultivo, como para realizar bioensayos. En todos los casos, se partió de hongos de 20 d de crecimiento en tubos inclinados con medio SDAY con tapón de gasa y algodón, cuya superficie se raspó con un asa de inoculación para desprender la mayor cantidad de conidios. Posteriormente al tubo se le agregaron 6 mL de Tween 80 (0.05%) para suspender los conidios y después vaciarlos a un tubo cónico de 15 mL. Dicho tubo se agitó en un Vortex® durante 5 min. Después la suspensión se filtró a través de una doble capa de gasa estéril, con la finalidad de retener grumos y micelio, hacia un nuevo tubo cónico de 15 mL, llamándose a éste Solución Madre (SM) de la cual se tomaron 0.1 mL y se mezclaron con 0.9 mL de Tween 80 (0.05%) en un tubo Eppendorf de 1.5 mL; se agitó el tubo en un Vortex® durante 5 min para obtener de esa manera una dilución 1:10. El procedimiento se repitió con la dilución 1:10 para obtener 1:100. En caso de ser necesario, se realizó una dilución 1:1000 siguiendo el mismo procedimiento. Las diluciones así obtenidas se agitaron durante 5 min en Vortex®, se tomaron 10 μ L y se depositaron en una cámara de Neubauer (Superior, Marienfel, Alemania) la cual se dejó reposar durante cinco minutos, para después observarla al microscopio con el objetivo 40 \times . Los conidios se contabilizaron en 5 cuadros de la cuadrícula central de ambas cámaras (Fig. 6). Se calculó la concentración de conidios (con mL^{-1}) con la siguiente fórmula (Inglis *et al.* 2012):

Promedio de propagulos contados $\times 25 \times 1000$ (factor de la cámara) \times factor de dilución

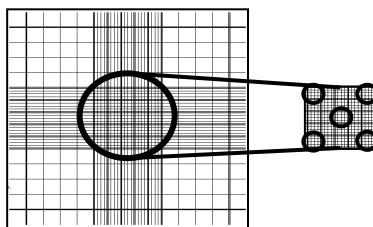


Fig. 6. Sitio de conteo en la cámara de Neubauer

6.3.1.2 Tasa de crecimiento

En el centro de una caja de Petri de 90 mm, que contenía el medio SDAY, se colocó un disco de papel filtro estéril de 6 mm de diámetro y a éste se le colocaron 5 μL de una suspensión de 8×10^6 conidios mL^{-1} viables. Todos los aislamientos se evaluaron a la par y se incubaron a 25°C. Cada día se midió el diámetro de la colonia, considerando como tal, el promedio de la medida de dos diámetros perpendiculares y restándole el diámetro del disco de papel filtro. Las lecturas se realizaron hasta que el crecimiento radial de alguno de los aislamientos se acercó a no menos de 0.5 cm de la orilla del medio de cultivo. En ese momento se detuvo la lectura para todos los aislamientos. Las pruebas se realizaron por triplicado.

6.3.1.3 Producción de conidios

La producción de conidios se realizó a partir de la caja de SDAY empleada para la tasa de crecimiento, 20 d después de incubación. En cada caja se hizo una horadación con un sacabocados, justo en el centro del crecimiento del hongo. La rodaja de medio que se obtuvo se colocó en un tubo cónico de 50 mL con 10 mL de Tween 80 (0.05%) y se agitó durante 1 min en Vortex® para suspender la mayor cantidad de conidios. A partir de dicha suspensión se determinó la concentración de conidios y considerando que la superficie de la rodaja tenía un área de 2.35 cm^2 se calcularon los conidios mm^{-2} . Se realizaron tres experimentos cada uno con tres repeticiones.

6.3.1.4 Porcentaje de germinación de conidios

En un tubo Eppendorf de 1.5 mL con 990 μL de Tween 80 (0.05%) se colocaron 10 μL de la suspensión obtenida en el raspado realizado para la medir producción de conidios. El tubo se agitó en Vortex® a velocidad media (3) durante un min, se tomaron 10 μL de la suspensión y se inocularon sobre una horadación hecha sobre medio Agar Papa Dextrosa (PDA). En cada caja de Petri se hicieron nueve horadaciones, una para cada una de las cepas, por lo que para cada ensayo de viabilidad se utilizaron dos cajas de

PDA. La caja se incubó durante $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 18 h. Después de la incubación, se colocaron las rodajas sobre un portaobjetos limpio y se agregó una gota de azul de lactofenol (Anexo 2.3), cubriendo después el trozo de PDA con un cubreobjetos limpio. La muestra se observó al microscopio con objetivo 40 \times . Se determinó el porcentaje de propágulos viables observando 100 conidios, tanto viables como no viables. Se consideraron viables aquellos conidios que presentaron un tubo germinativo de una longitud mayor a la mitad del tamaño de los mismos (Wraight *et al.* 2007). Se realizaron 3 experimentos, cada uno con tres repeticiones.

6.3.1.5 Longitud de tubo germinativo

A partir de las rodajas utilizadas en las pruebas de viabilidad se realizaron mediciones de los tubos germinativos de los conidios viables. Para ello se tomaron fotografías con objetivo 40 \times en un microscopio Axio Scope A.I., con una cámara AxioCam ICc1, ambos de la marca Zeiss®. Las fotografías fueron analizadas en el programa Axiovision LE64. Se realizó la medición de 30 estructuras.

6.3.1.6 Análisis estadístico

Los valores medios de cada variable evaluada para las 19 cepas se estandarizaron a una puntuación Z. Antes de la estandarización, los datos expresados como porcentajes se transformaron utilizando la función ($\arcsen \sqrt{(p/100)}$). Se determinó si los conjuntos de datos eran paramétricos utilizando la prueba de Shapiro-Wilk. Todos los datos se analizaron por el método de Análisis de Componentes Principales (ACP) utilizando la configuración del método Spearman del paquete estadístico XLStat (V.2018 para Windows, Addinsoft, E.E.U.U.). Los gráficos se generaron mediante rotación Varimax (ortogonal) para resaltar los puntos de interés. Las correlaciones de ACP se consideraron significativas cuando el valor p de la prueba de esfericidad de Bartlett fue ≤ 0.05 . Las variables que tuvieron un coeficiente de correlación ≥ 0.6 se consideraron relevantes.

Los datos también fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía con prueba de Tukey-b para comparación múltiple de medias.

Se seleccionaron las 10 cepas que mostraron los fenotipos deseables para continuar con la segunda etapa de caracterización.

6.3.2 Patrón de factores asociados con la virulencia

Para los aislamientos de *B. bassiana* que se seleccionaron a partir del ACP de la primera etapa, se determinó la actividad enzimática ligada a pared celular de los conidios, de dos enzimas degradadoras de cutícula: proteasa Pr1 y quitinasa β -N-acetil-glucosamidasa (NAGasa). De igual forma se les realizaron pruebas de hidrofobicidad y porcentaje conidios monopolares. Estos parámetros se determinaron haciendo crecer a los hongos en un medio estándar de inducción (MEI) con ratio C:N de 10:1 (Anexo 2.4) para favorecer la producción de dichas enzimas (Shah *et al.* 2005; Safavi *et al.* 2007)

6.3.2.1 Actividad de la proteasa Pr1

Para determinar la actividad de la proteasa Pr1 se empleó el sustrato Succinil-(Alanina)₂-Prolina-Fenilalanina-*p*-nitroanilina (SAPFNA) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) a una concentración de 1mM preparado en buffer de Tris-HCl a un pH de 7.9. En tubos Eppendorf de 2 mL se colocaron 500 μ L de una suspensión de conidios a una concentración de 3×10^8 con mL^{-1} , y se mezclaron con 500 μ L de sustrato. Las suspensiones se incubaron a 37°C durante 10 min, tiempo después del cual se detuvo la reacción con 100 μ L de HCl 0.1 M. Se colocaron los tubos en hielo durante 5 min para estabilizar el cromógeno resultante de la reacción enzimática y posteriormente se centrifugaron los tubos a 12,000 rpm por 5 min a 4°C (Thermo Scientific, Hamburg, Germany). Las lecturas de absorbancia se realizaron con 2 μ L del sobrenadante en un espectrofotómetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, Wilmington, DE, USA) a una longitud de onda de 405 nm. Se utilizaron como blanco el amortiguador Tris-HCl + sustrato + Tween 80 (0.05%). La actividad enzimática de proteasas se reportó en nmoles

de nitroanilina $\text{mL}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Se realizaron 3 replicas del experimento, cada uno con 3 repeticiones.

6.3.2.2 Actividad quitinasa por β -N-acetil-glucosamidasa (NAGasa)

Para determinar la actividad de la NAGasa se empleó el sustrato *p*-nitrofenil- β -N-acetil glucosamina (Sigma-Aldrich) a una concentración de 1 mg mL^{-1} , preparado en agua mili Q. En un tubo plástico ámbar de 2 mL se colocaron 200 μL de una suspensión de conidios a una concentración de $3 \times 10^8 \text{ con mL}^{-1}$, 200 μL de buffer citrato- K_2HPO_4 0.2 M (pH 5.6) y 200 μL se suspendieron en 1 mL del sustrato. Las suspensiones se incubaron a 37°C durante 60 min con agitación, después del cual se detuvo la reacción con 1 mL de NaOH 0.02 M. Los tubos se centrifugaron a 12,000 rpm por 5 min a 4°C (Thermo Scientific, Hamburgo, Alemania). Las lecturas de absorbancia se realizaron con 2 μL del sobrenadante en un espectrofotómetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, Wilmington, Delaware, Estados Unidos) a una longitud de onda de 400 nm. Se utilizaron como blanco el buffer citrato- K_2HPO_4 + sustrato + Tween 80 (0.05%) La actividad enzimática de la quitinasa se reportó en nmoles de nitrofenol $\text{mL}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Se realizaron 3 replicas del experimento, cada uno con 3 repeticiones.

6.3.2.3 Hidrofobicidad

Para realizar estas pruebas se emplearon cepas de 15 d de cultivadas en MEI en tubo inclinado, con tapón de gasa y algodón, cuya superficie se raspó con un asa de inoculación para desprender la mayor cantidad de conidios. Posteriormente al tubo se le agregaron 15 mL de KNO_3 0.1 M, previamente filtrado en membrana de 0.2 μm (Thermo Scientific), con la intención de suspender los conidios, para después vaciarlos a un tubo Corning de 50 mL. El tubo se agitó en un Vortex[®] durante 5 min a la máxima velocidad. La suspensión se filtró a través de una doble capa de gasa estéril, hacia un nuevo tubo cónico de 50 mL, quedando de esta manera la SM, a la cual se le realizaron cálculos de concentración y a partir de la cual se prepararon suspensiones de 5 mL con una concentración de 1×10^7 conidios mL^{-1} .

A continuación, en tubos de ensayo de cristal de 10.5 × 100 mm se agregó 1 mL de *n*-hexadecano (Sigma-Aldrich) y 3 mL de la suspensión de conidios, una vez hecha la mezcla se agitó en Vortex® (7) durante 20 s y se dejó en reposo total por 30 min para permitir la separación completa de las fases acuosa y orgánica. Enseguida, se extrajo cuidadosamente un mL de la fase acuosa con una pipeta Pasteur y se vertió en un nuevo tubo de ensayo de cristal para realizar el conteo de conidios en cámara de Neubauer (Su Kim *et al.* 2010; García-Ortiz *et al.* 2015).

La hidrofobicidad relativa se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$H(\%) = (1 - C/C_0)100\%$$

donde:

C₀= Concentración inicial de conidios.

C= Concentración de conidios residuales en fase acuosa.

6.3.2.4 Porcentaje de conidios monopolares

A partir de las suspensiones de conidios que se emplearon para las pruebas de actividad enzimática se inocularon 10 µL sobre una horadación hecha en medio PDA. La caja se incubó a 25 °C durante 18 h. Después de la incubación, se colocaron las rodajas sobre un portaobjetos limpio y se agregó una gota de azul de lactofenol, cubriendo después el trozo de PDA con un cubreobjetos estéril. La muestra se observó al microscopio con objetivo 40×. Se determinó el porcentaje de propágulos que presentaban únicamente un solo tubo germinativo observando para ello un total de 100 conidios.

6.3.2.5 Análisis estadístico

Los valores medios de cada parámetro se analizaron mediante el ACP, como se describe en la sección 6.3.1.6. El agrupamiento y la correlación de las variables permitió la caracterización de cuatro cepas para evaluarlas contra hembras de *X. affinis*.

6.4 Bioensayos

Se determinó la actividad insecticida de los conidios de los aislados de *B. bassiana* que presentaron características ya sea fenotípicas y/o de virulencia favorables. Los conidios se obtuvieron haciendo crecer los aislados en el medio MEI.

6.4.1 Cría de escarabajos

Se colectaron escarabajos adultos de campo los cuales se sometieron al siguiente ciclo de lavado: agua destilada con Tween 80 (0.05%), alcohol al 70%, agua destilada con Tween 80 (0.05%), hipoclorito de sodio al 0.1% con Tween 80 (0.05%), cada uno por 10 s. Las soluciones se emplearon frías. Una vez que los insectos se secaron, con ayuda de un pincel desinfectado (etanol al 70%), se colocaron de seis a ocho individuos, en tubos con dieta artificial (Cooperband *et al.* 2016; Anexo 3), preparado a partir de aserrín de árbol de aguacate.

Algunos insectos fueron enviados al Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF) de la Dirección General de Sanidad Vegetal (SENASICA-SADER) para su identificación.

6.4.2 Actividad insecticida de *B. bassiana* aplicado por aspersión

Se emplearon hembras de *X. affinis* provenientes de una colonia en tubo con dieta que tenía cuatro semanas de haber sido infestada. Se evitó usar insectos tenerales o demasiados esclerotizados. Los insectos se desinfectaron mediante el ciclo de lavado descrito previamente. Los escarabajos se dejaron secar por 20 min sobre un papel absorbente esteril. Se realizaron grupos de 13 individuos.

Las aplicaciones de los hongos se realizaron con una torre de Potter (Burkard Scientific, BS00281, Uxbridge, Reino Unido) calibrada a 103.425 KPa de presión, empleando 2 mL de una concentración de 1×10^8 conidios viables mL^{-1} (Fig. 7). Cada cepa fue evaluada con cinco experimentos, cada uno con 2 repeticiones compuesto de 10 individuos.



Fig. 7. Torre de Potter.

Después de asperjar a los insectos con la suspensión conidial se colocaron de manera individual en viales plásticos con un bloque de dieta artificial (Fig. 8). Los viales con los insectos se colocaron en una cámara húmeda para mantener las condiciones en $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y una HR superior al 70% (Fig. 9).



Fig. 8. Viales de ensayo con un trozo de dieta artificial.

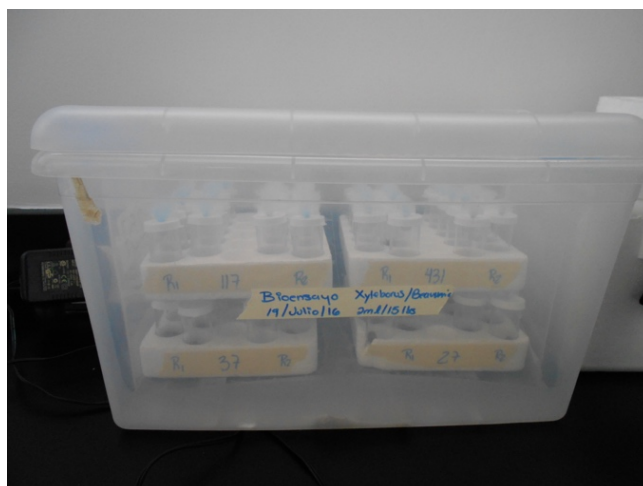


Fig. 9. Cámara húmeda para bioensayo.

Los ensayos se mantuvieron durante ocho días, tiempo durante el cual se realizaron cambios de dieta en los viales cada dos días, pero diariamente se observaron para identificar algún individuo muerto.

Los insectos que se encontraron muertos se desinfectaron con un ciclo de lavado, dando una agitación en Vortex® a velocidad media (3) en cada lavado por 10 s. Se colocaron en una cámara húmeda para promover la micosis por *B. bassiana*.

Por repetición se tomaron cinco insectos que presentaron micosis y se colocaron individualmente en un tubo Eppendorf de 2 mL con 1.5 mL de Tween 80 (0.05%) y se agitó por un min (Vortex®, velocidad 10). Los viales se dejaron reposar, en refrigeración, durante 24 h. Posteriormente se volvió a mezclar durante un min y se tomaron 6 alícuotas de 10 µL de la suspensión y se colocaron en una cámara de Neubauer para determinar la cantidad de conidios promedio por insecto.

6.5.2.1 Análisis estadístico

Los datos de mortalidad, micosis y de conidios por insecto, fueron analizados empleando ANDEVA de una vía, con prueba de Duncan para comparación múltiple de medias. Los valores expresados en porcentaje previamente fueron convertidos mediante transformación angular ($\arcsen \sqrt{(p/100)}$).

El tiempo para alcanzar el 40% de la mortalidad, LT₄₀, se estimó a partir de una gráfica de mortalidad acumulada en función del tiempo. Los datos se ajustaron a una

función de caída exponencial, como se muestra a continuación (Rodríguez-Gomez *et al.* 2009).

$$Y = 100; \text{ If } 0 \leq t \leq t_0$$

$$Y = (100 - S) e^{(-k(t - t_0))} + S; \text{ si } t > t_0$$

donde

Y es el porcentaje de supervivencia en el tiempo t ;

k , es la tasa de mortalidad específica (d^{-1}):

t_0 es el tiempo de inicio de muerte (d) y

S , es el nivel de supervivencia asintótica estimado (%).

Este modelo corresponde a la solución de una ecuación diferencial de primer orden con el retardo de tiempo indicado, la condición inicial mencionada anteriormente y el valor asintótico, $Y \rightarrow S$ para $t \rightarrow \infty$.

6.4.3 Efecto de *B. bassiana* sobre la progenie

Los conidios necesarios para los bioensayos se cosecharon con Tween 80 (0.05%) en placas de Petri que contenían SDAY y se incubaron a 27°C en la oscuridad durante 20 d. Se prepararon cuatro concentraciones de conidios de cada cepa: 2×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 y 1×10^9 conidios viables mL^{-1} .

Las hembras de *X. affinis* se sometieron a un ciclo de lavado, dejándolos reposar en papel absorbente durante 20 min. Transcurrido el tiempo, se obtuvieron grupos de 10 individuos en placas de Petri estériles de 150×600 mm.

La inoculación de las cepas de *B. bassiana* se llevó a cabo introduciendo 20 individuos en tubos cónicos de 50 mL con 30 mL de las concentraciones de conidios a evaluar. Los tubos se mezclaron gentilmente durante 10 s. El testigo consistió en un tubo con Tween 80 (0.05%). Los insectos se sacaron de los tubos y se colocaron de manera individual en un tubo Eppendorf de 2 mL con un mL de dieta artificial.

Los tubos fueron puestos en oscuridad durante 10 d a 25 °C. Transcurrido este tiempo, se extrajo la dieta para contabilizar los huevos, larvas y adultos. Los cadáveres se transfirieron a un papel filtro húmedo en una placa estéril y se incubaron a 25 °C. Se examinaron después de 5-7 d para confirmar la micosis por el entomopatógeno.

6.4.3.1 Análisis estadístico

El número de individuos inmaduros contabilizados y los porcentajes de mortalidad de adultos en cada uno de los tratamientos fueron transformados mediante las funciones \sqrt{x} y $\arcsen \sqrt{p/100}$ respectivamente, para establecer diferencias a través de un ANDEVA con una prueba de comparación múltiple de medias Tukey-b.

6.4.4 Grado de remoción de conidios por efecto de la dieta en los bioensayos

Para contabilizar la cantidad de conidios removidos en los insectos por el contacto con la dieta, se realizaron inoculaciones con cada una de las cuatro dosis descritas anteriormente con la cepa CHE-CNRCB 44 en hembras de *X. affinis*, siguiendo el procedimiento descrito anteriormente. Se colocó un insecto en un tubo Eppendorf de 2 ml con dieta y se determinó el número de conidios adheridos a cada insecto en el momento 0, 24, 48 y 72 h, utilizando la metodología modificada de Carrillo *et al.* (2015). Cada insecto (con la excepción del tiempo 0, que se procesó después de la inoculación) se retiró de la dieta artificial y se colocó individualmente en tubos Eppendorf (1.5 mL) que contenían 150 μ L de Tween 80 (0.05%). La solución se agitó suavemente durante un minuto para luego tomar 100 μ L y colocarlos en un hemocitómetro, donde se realizó el recuento de los conidios. Se colocó 10 μ L de la suspensión de conidios sobre un trozo de medio PDA para determinar la viabilidad. El experimento se realizó por triplicado con un diseño factorial de bloques.

6.5 Formulación

Se propuso la preparación de una emulsión invertida para formularse junto con las cepas de *B. bassiana* y evaluar su efecto sobre el escarabajo *X. affinis* en un modelo de superficie impregnada.

6.5.1 Preparación de emulsiones

Se realizaron modificaciones a la emulsión propuesta por Batta (2016), los cuales consistieron en cambios en el tipo de surfactante empleado y las proporciones en que se mezclaron los ingredientes.

Se prepararon emulsiones empleando los siguientes ingredientes:

1) Fase oleosa: petrolato (Almacenes de drogas de la Paz S.A. de C.V., Jalisco, México), cera de abeja alba (Multiceras, Nuevo León, México), cera microcristalina (Multiceras, Nuevo León, México), aceite de coco (Productos industrializados de Tecoman S.A. de C.V., Colima, México), hectorita de esteralconio (Elementis Bentone Nueva Jersey, E.E.U.U.), galeol (Gattefossé Corporation, Nueva Jersey, E.E.U.U.), aceite de soya Nutrioli (Ragasa Industrias S.A. de C.V., Nuevo León, México), spam 80 (Sigma Aldrich, Misuri, E.E.U.U.), spam 83 (Sigma Aldrich, Misuri, E.E.U.U.), spam 85 (Sigma Aldrich, Misuri, E.E.U.U.), aceite mineral (Almacenes de drogas de la Paz S.A. de C.V., Jalisco, México).

2) Fase acuosa: agua, glicerol (Sigma Aldrich, Misuri, E.E.U.U.) y Tween 80 (Hycel, Jalisco, México).

Las fases se prepararon, de manera individual, en vasos de precipitado de 50 mL. Los ingredientes de la fase oleosa fueron mezclados y calentados (150 °C) en una parrilla eléctrica hasta su completa incorporación.

La fase acuosa se incorporó lentamente a la fase oleosa, la cual se encontraba aún caliente y en agitación a 300 rpm con una barra magnética (WiseStir, Wise Laboratory Instruments, Dublin, Ireland). Una vez incorporado en su totalidad la fase acuosa, la

emulsión resultante se dejó en agitación hasta que su temperatura se igualó a la del ambiente para después ser colocada en tubos de vidrio con tapón de rosca de plástico.

Se determinó que cada emulsión preparada fuese agua en aceite (W/O [water/oil], por sus siglas en inglés) mediante la aplicación de una gota de cada emulsión en un tubo de ensayo de 10 × 100 mm con agua destilada. Si la gota de emulsión no se suspendía en el agua, se consideró que ésta era del tipo W/O (Fig. 10). De igual forma se confirmó lo anterior mediante una prueba de conductividad de la emulsión empleando un circuito eléctrico con un foco led indicador. Si la emulsión cerraba el circuito (no prendía el led) se consideraba del tipo W/O.

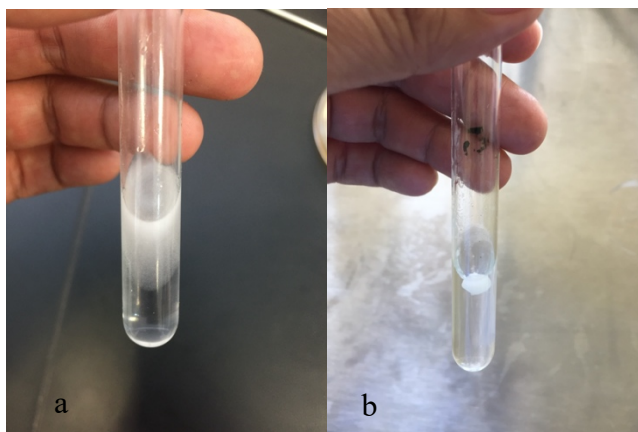


Fig. 10. Prueba de gota en agua para determinar el tipo de emulsión. a) La emulsión se dispersa en el agua. b) la emulsión no se dispersa en el agua.

También se determinó la estabilidad de las emulsiones midiendo el % de separación de las fases después de 72 h a 25 °C. La estabilidad expresó en porcentaje por h.

6.5.2 Compatibilidad de *B. bassiana* formulado en la emulsión invertida

Se estandarizó la técnica de formulación del hongo con la emulsión invertida (Anexo 4) para evitar que el manejo de las altas temperaturas pudiera afectar a los conidios. Se prepararon formulados con una concentración de 1×10^8 conidios mL^{-1} y se mantuvieron a 25 °C durante 7 d.

La compatibilidad de las cepas seleccionadas se evaluó con la emulsión invertida que presentó la mejor estabilidad siguiendo la técnica de Unidades Formadoras de Colonias (Anexo 5).

Se midieron las UFC mL⁻¹ al momento de la preparación del formulado, a los tres y al séptimo día. Se determinó el porcentaje de viabilidad perdida en la emulsión. Los experimentos se realizaron por triplicado.

6.5.3 Efectividad de formulados de *B. bassiana*

Se emplearon hembras de escarabajos de *X. affinis* provenientes de dieta en tubo, se desinfectaron como se describe en los apartados de bioensayos. Se asperjaron 2 mL de formulado de cada tratamiento, de una concentración de 1×10^8 con mL⁻¹ viables, sobre un papel filtro Whatman #1, mediante torre de Potter calibrada a 103.425 kPa de presión. Sobre el papel filtro se colocaron 10 escarabajos y se les dejó caminar sobre el mismo durante 60 min. Posteriormente se colocarán los 10 insectos en un tubo con dieta artificial durante 10 d. Transcurrido el tiempo, se rompieron los tubos y se contabilizaron larvas y huevos presentes. Cada cepa fue evaluada con cinco experimentos, cada uno con 3 repeticiones.

6.5.4. Análisis estadístico

El número de huevos y larvas fueron convertidos con transformación de raíz cuadrada (\sqrt{x}) mientras que los porcentajes se transformaron mediante la función $\arcsen \sqrt{p/100}$. Se compararon las cepas para cada parámetro mediante un ANDEVA con una prueba de comparación múltiple de medias Tukey-b.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Patrón fenotípico de crecimiento

El perfil de crecimiento de las cepas es una característica importante dentro del proceso de selección de aislamientos de HEP (Kamp & Bidochka, 2002). Una razón es que proporciona una idea de la capacidad de producción que pudieran tener los hongos en un sistema tradicional bifásico de producción masivo (Wraight et al., 2007; Ravensberg, 2011). Desde luego, representa una ventaja al querer comercializar los propágulos para grandes superficies de cultivo.

Otra razón por lo que es importante el perfil de crecimiento de las cepas es que algunas características se han correlacionado de manera positiva con la patogenicidad de los hongos. Por mencionar algunos, Almeida *et al.* (1997) informaron una correlación positiva entre producción conidial de *Beauveria* spp. y los niveles de mortalidad por *Heterotermes tenuis* (Hagen). Por otra parte, Pletamul y Prasertsan (2012) informaron que la cepa BNBCRC de *B. bassiana*, que exhibió una alta viabilidad y un crecimiento radial moderado, presentó en una mayor mortalidad de *Spodoptera litura* Fabricius. Estos antecedentes nos permitieron plantear la hipótesis de que cepas de *B. bassiana* seleccionadas a partir del perfil de crecimiento destacados podrían ser virulentas contra los escarabajos ambrosiales, que fueron consideradas en la primera etapa de selección. En una segunda etapa de evaluación de cepas, se optó por el análisis de otras variables estrechamente relacionadas durante los procesos infecciosos en los insectos.

El análisis individual de los parámetros determinados en la primera etapa de este trabajo nos muestra la diversidad de cepas evaluadas (Tabla 2), presentando rangos amplios en los valores de cada variable, con excepción de la germinación en donde estadísticamente no hubo diferencias significativas entre las cepas ($p < 0.05$). Sin embargo, el rango de la tasa de crecimiento fue entre el 1.98 y 3.77 mm día⁻¹; la producción de conidios fue entre 0.21 y 11.7×10^8 conidios mm⁻² y la longitud del tubo germinativo entre 20.61 y 76.96 mm.

Tabla 2. Variables evaluadas en la primera fase de selección de *Beauveria bassiana*.

Cepa	Variables*			
	Tasa de crecimiento (mm día ⁻¹)	Producción de conidios (×10 ⁸) (conidios mm ⁻²)	Germinación (%)	Longitud de tubo germinativo (mm)
21	1.98±0.15 ^a	11.7±1.23 ^{def}	97.56 ±0.38 ^a	55.28±11.25 ^f
22	3.09±0.24 ^{bcd}	3.35±1.18 ^{ab}	96.11±3.27 ^{ab}	71.22±24.19 ^{gh}
25	3.65±0.69 ^{ef}	2.73±0.59 ^{ab}	93.11±3.01 ^{ab}	34.49±8.92 ^{bcd}
26	2.25±0.31 ^{ab}	7.07±1.06 ^{bcd}	96.78±1.35 ^{ab}	67.28±18.40 ^{fghi}
27	2.18±0.14 ^{ab}	3.00±1.29 ^{ab}	94.83±3.55 ^{ab}	66.65±23.96 ^{fghi}
30	2.14±0.68 ^{ab}	1.61±0.44 ^{ab}	87.11±3.42 ^b	30.71±8.35 ^{abcd}
37	3.73±0.13 ^{ef}	7.18±1.23 ^{bcd}	96.39±1.78 ^{ab}	76.96±19.56 ^{gh}
38	3.02±0.40 ^{abc}	5.56±0.78 ^{abc}	96.00±2.00 ^{ab}	57.82±19.15 ^{fg}
44	2.47±0.30 ^{abcd}	15.7±6.92 ^{ef}	88.56±3.67 ^{ab}	20.61±6.85 ^a
105	3.32±0.47 ^{cd}	2.62±0.99 ^{ab}	94.11±0.96 ^{ab}	69.43±18.98 ^{fgh}
117	2.86±0.29 ^{abc}	12.1±1.68 ^{cde}	96.28±0.75 ^{ab}	33.08±9.47 ^{abcd}
171	3.36±0.03 ^{cd}	16.9±2.75 ^f	92.94±4.03 ^{ab}	25.33±4.73 ^{ab}
173	2.70±0.29 ^{abc}	0.21±0.06 ^a	95.44±2.22 ^{ab}	27.08±5.95 ^{abc}
174	3.44±0.21 ^{def}	13.0±1.63 ^{ef}	89.22±5.58 ^{ab}	28.35±8.15 ^{abcd}
431	3.77±0.18 ^f	3.71±1.00 ^{ab}	89.89±9.05 ^{ab}	42.14±12.35 ^c
483	2.72±0.20 ^{abc}	2.58±0.75 ^{ab}	94.44±1.95 ^{ab}	39.68±8.47 ^{cd}
484	3.05±0.44 ^{bcd}	3.38±2.6 ^{ab}	95.33±1.33 ^{ab}	40.87±10.66 ^d
485	3.11±0.24 ^{bcd}	1.42±0.12 ^{ab}	96.56±0.51 ^{ab}	78.96±16.62 ^h
486	2.32±0.60 ^{abc}	2.70±0.02 ^{ab}	97.00±0.67 ^{ab}	64.64±12.75 ^{fgh}

*Media ± DS en una misma columna seguida de la misma letra superior muestran diferencia estadísticamente significativa ($p<0.05$) mediante un ANDEVA y análisis de comparación múltiple de medias de Tukey-b.

Como se muestra en la tabla anterior, el ANDEVA realizado resulta de utilidad al momento de querer diferenciar entre las cepas con respecto a cada una de las variables. Sin embargo, resulta complicado tratar de establecer un perfil de cada cepa con todas las variables evaluadas. Es en estos casos donde los análisis multivariantes, como el análisis de componente principales (ACP), resultan de utilidad. Permitiendo establecer relaciones entre las variables y como en nuestro caso, definir perfiles para cada cepa.

Los resultados del ACP indicaron la agrupación de los datos en tres componentes principales que representaron el 94.25% de la varianza total. La mejor correlación con el componente 1 (CP1) se observó para la longitud del tubo germinativo y la germinación. El componente 2 (CP2) mostró la mayor correlación con la tasa de crecimiento, mientras que el componente 3 (CP3) se correlacionó con la producción de conidios (Tabla 3).

Tabla 3. Coeficientes de correlación entre las variables analizadas (etapa inicial de selección) y los componentes principales extraídos CP1, CP2, CP3 después de la rotación Varimax.

Variable	CP1	CP2	CP3
Tasa de crecimiento	-0.04	0.98	0.09
Producción de conidios	-0.09	0.09	0.98
Germinación	0.91	-0.29	0.08
Longitud del tubo germinativo	0.89	0.21	-0.27

A partir de la suma ponderada de cada cepa por componente, se seleccionaron aquellas que presentaron valores superiores a 0.3 (Encerradas en óvalos Fig. 11, Fig. 12).

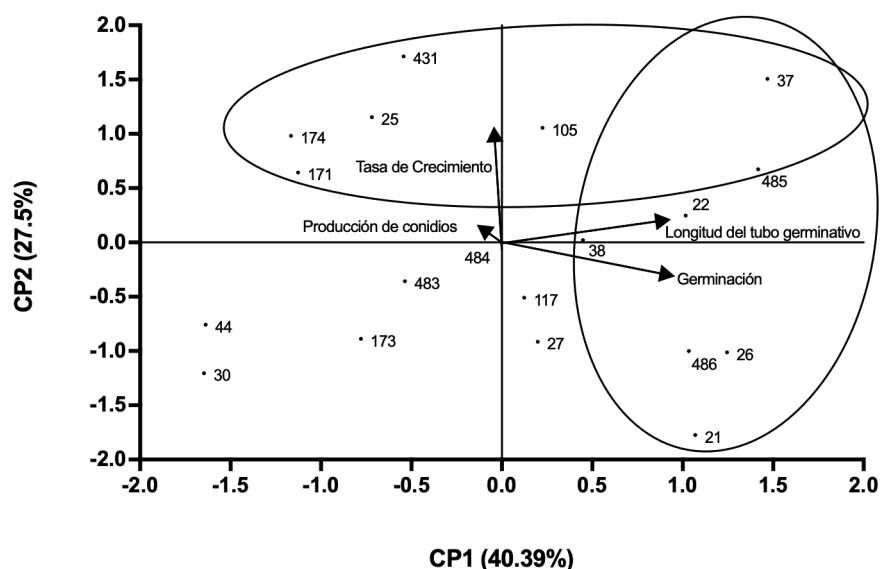


Fig. 11. Relaciones entre las variables, componentes (CP1 vs CP2) y distribución de cepas de *Beauveria bassiana* en la etapa de selección inicial. Cada punto representa la suma ponderada de cada cepa en su componente respectivo. Las flechas indican la dirección y la magnitud de la correlación de las variables con los componentes extraídos.

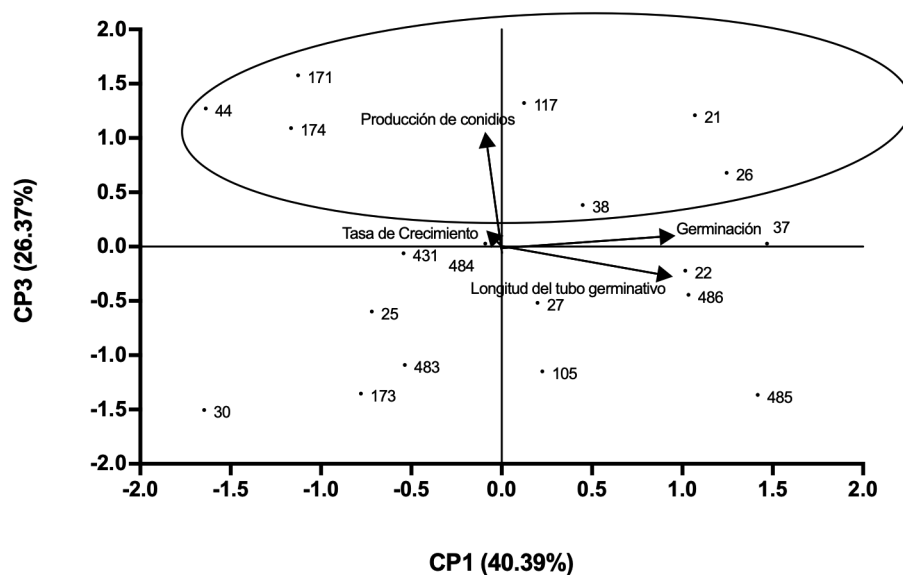


Fig. 12. Relaciones entre las variables, componentes (CP1 vs CP3) y distribución de cepas de *Beauveria bassiana* en la etapa de selección inicial. Cada punto representa la suma ponderada de cada cepa en su componente respectivo. Las flechas indican la dirección y la magnitud de la correlación de las variables con los componentes extraídos

Posterior a éste análisis, se seleccionaron las cepas que se asociaron en tres grupos (Tabla 4):

- 1) aquellas que se caracterizaron por producir tubos germinales largos y presentaron niveles de germinación altos [cepas 21, 22, 26, 37, 38, 485 y 486];
- 2) aquellas con tasas de crecimiento altas [cepas 25, 37, 105, 171, 174, 431 y 485];
- 3) aquellas con mayor producción de conidios [cepas 21, 26, 38, 44, 117, 171 y 174].

Tabla 4. Agrupación de las cepas de *Beauveria bassiana* de acuerdo a las variables medidas.

Germinación (%) y longitud del tubo germinativo (mm)	Tasa de crecimiento (mm día ⁻¹)	Producción de conidios (×10 ⁸) (conidios mm ⁻²)
37	431	171
485	37	117
26	25	44
21	105	21
486	174	174
22	485	26
38	171	38

Un criterio adicional de selección fue que las cepas estuvieran presentes en al menos dos de los grupos formados en la Tabla 4. Las cepas que cumplieron con este criterio fueron la CNRCB 21, 26, 37, 38, 171, 174 y 485. Además, también se eligió la cepa CNRCB 431 ya que tenía los niveles más altos de germinación. Finalmente, basándose en la producción de conidios, también se seleccionaron las cepas CNRCB 44 y 117. Un total de diez cepas se utilizaron en la siguiente etapa de análisis.

7.2 Patrón de factores de virulencia

La actividad hidrolítica de las enzimas de los HEP se ha considerado un parámetro estrechamente relacionado con su capacidad insecticida. En este sentido, las enzimas que degradan la cutícula de los insectos son clave por la infección (St. Leger *et al.* 1991; Montesinos-Matías *et al.* 2011a). Su actividad puede resultar en una reducción del tiempo de inicio de muerte de la plaga (Montesinos-Matias *et al.* 2011a; Castrejón-Antonio *et al.* 2017a). Trabajos previos de sobreexpresión enzimática han demostrado el papel de las enzimas degradadoras de cutícula (hidrolasas como la proteasa Pr1 y las quitinasas) en la virulencia de *B. bassiana* contra algunos insectos (Fang *et al.* 2009; Pelizza *et al.* 2012).

Los valores promedio de los parámetros medidos (proteasas similares a Pr1, quitinasa (NAGasa), hidrofobicidad de conidios y porcentaje de germinación monopolar de los conidios) para cada una de las 10 cepas seleccionadas se muestran en la Tabla 5. El análisis de ACP de variables reveló que el 84.26% de la variabilidad fue atribuido a dos componentes principales.

Tabla 5. Variables evaluadas en la segunda fase de selección de *Beauveria bassiana*.

Cepa	Variables*			
	Actividad proteasa Pr1 (nmoles NA mL ⁻¹ min ⁻¹)	Actividad quitinasa NAGasa (nmoles NP mL ⁻¹ min ⁻¹)	Hidrofobicidad (%)	Conidios monopolares (%)
21	107.89±3.16 ^c	9.99±0.43 ^a	88.17±2.4 ^{abc}	76.13±11.93 ^{abc}
26	74.67±2.74 ^a	7.16±1.26 ^a	87.50±1.75 ^{abc}	60.13±9.82 ^{abc}
37	81.64±2.91 ^{ab}	9.97±1.04 ^a	76.33±9.52 ^{bc}	56.88±10.67 ^{bc}
38	112.64±1.11 ^c	11.21±2.39 ^{abc}	90.28±9.09 ^{ab}	66.63±14.27 ^{abc}
44	107.67±6.14 ^c	7.71±1.84 ^a	96.23±4.86 ^a	85.50±6.59 ^a
117	110.00±2.1 ^c	16.15±1.01 ^c	67.42±6.79 ^c	82.17±2.71 ^c
171	110.89±2.92 ^c	6.63±1.64 ^a	92.25±7.75 ^{ab}	84.50±6.14 ^{ab}
174	90.94±9.40 ^b	11.10±2.64 ^{ab}	86.67±0.76 ^{abc}	83.50±4.69 ^{abc}
431	111.64±4.73 ^c	19.78±0.53 ^d	86.17±2.88 ^{abc}	65.63±6.61 ^{abc}
485	245.25±4.79 ^d	17.68±2.22 ^d	74.42±3.41 ^{bc}	7.13±2.47 ^d

*Media ± DS en una misma columna seguida de la misma letra superior muestran diferencia estadísticamente significativa ($p<0.05$) mediante un ANDEVA y análisis de comparación múltiple de medias de Tukey-b.

Se observó una alta correlación entre CP1 y la proporción de conidios monopolares, así como la hidrofobicidad (coeficiente de correlación de 0.90). Para CP2, se observó una correlación con la actividad de proteasa Pr1 y la actividad de quitinasa NAGasa (coeficiente de correlación de 0.96) (Tabla 6).

Tabla 6. Coeficientes de correlación entre las variables analizadas (segunda etapa de selección) y los componentes principales extraídos 1 y 2 (CP1, CP2) después de la rotación Varimax.

Variables	CP1	CP2
Actividad proteasa Pr1	0.04	0.96
Actividad quitinasa NAGases	-0.53	0.77
Hidrofobicidad	0.90	-0.17
Conidios monopolares	0.85	-0.04

La presencia de hidrofobinas en la pared celular de los conidios está involucrada en la adhesión a la cutícula de los insectos, lo que lleva a una mayor probabilidad de invasión al insecto (Butt *et al.* 2016; Wang y Wang 2017). La relación entre la virulencia y la polaridad del tubo germinal posiblemente se deba a la actividad metabólica en un solo

tubo germinal, lo que facilita la penetración en el cuerpo del insecto (Butt *et al.* 2016; Wang *et al.* 2019).

La comparación de la distribución de la suma ponderada de cada cepa por componente mostró que las cepas CHE-CNRCB 44 y 171 tenían niveles altos de hidrofobicidad y germinación monopolar de conidios, mientras que las cepas CHE-CNRCB 431 y 485 exhibieron una actividad quitinasa NAGasa y Pr1 mayor, respectivamente (encerradas en los óvalos de Fig. 13). La distribución de dicha cepas, permitió su selección para las siguientes pruebas *in vivo*.

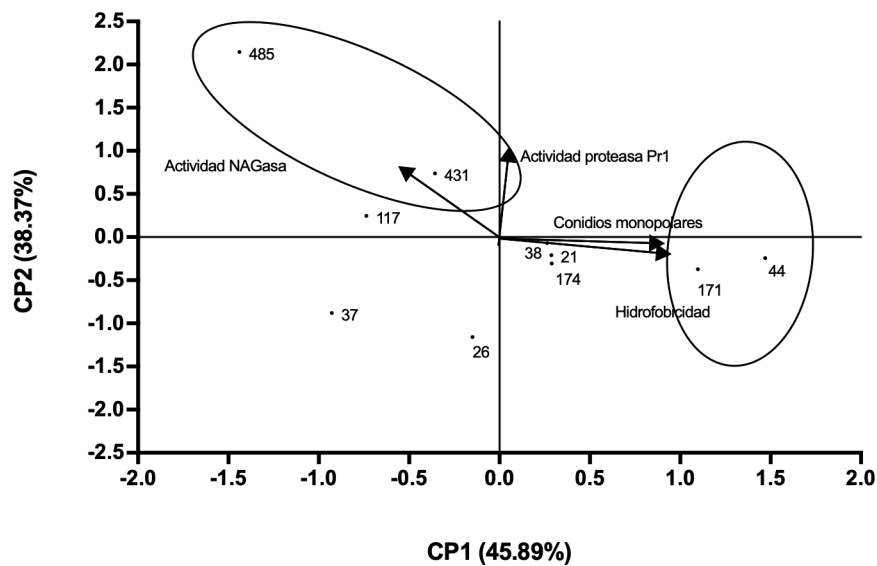


Fig. 13. Relaciones entre las variables, componentes (CP1 vs CP2) y distribución de cepas de *Beauveria bassiana* en la segunda etapa de selección. Cada punto representa la suma ponderada de cada cepa en su componente respectivo. Las flechas indican la dirección y la magnitud de la correlación de las variables con los componentes extraídos

7.3. Colonia de escarabajos ambrosiales

Durante los meses de septiembre de 2015 a marzo de 2016, se realizaron prospecciones en huertas comerciales activas de aguacate en los municipios de Comala (Rancho de Agosto; 19.45965° N, -103.65603° W y Cofradía de Suchitlán; 19.251191° N, -103.43227 W), Manzanillo (Venustiano Carranza; 19.02663° N, -104.09755° W) y Minatitlán (El Arrayanal; 19.25156° N, -104.09676° W) en el estado de Colima, México; la búsqueda se realizó en más de una huerta en cada localidad. En la exploración de los tres municipios se observaron árboles con coloración anormal en la corteza de la parte

media e inferior del tronco, además de signos de marchites y pequeños orificios con virutas de aserrín (Fig. 14). Tras realizar cortes de estas secciones, se observaron galerías con la presencia de escarabajos adultos (Fig. 15) y sus diferentes estadios.



Fig. 14. Árbol de aguacate con presencia de virutas de aserrín en su corteza.



Fig. 15. Madera de árbol de aguacate con galerías y adultos de *Xyleborus sp.*

Los individuos adultos fueron recolectados, montados, etiquetados y guardados en la Colección de Insectos del Departamento de Entomología y Acarología del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF) de la Dirección General de Sanidad Vegetal (SENASICA-SADER), con los números de orden de servicio: 85478, 95323 y 111056; y clave interna: 15P0040451, 16P0008206 y 17P0003086, respectivamente. Los escarabajos se identificaron con las claves taxonómicas descritas por Wood (1982), determinando a las siguientes tres especies de escarabajos ambrosiales: *Xyleborus affinis* Eichhoff (Comala, Manzanillo y Minatitlán), *Xyleborus volvulus* Fabricius (Manzanillo) y *Xyleborus spinulosus* Blandford (Comala).

A partir de las colectas se estableció la colonia de *X. affinis* (Fig. 16), siendo la especie que mejor se adaptó en el laboratorio de la CHE-CNRCB.

Después de consultar en colecciones entomológicas, con material colectado en campo y revisión de literatura, Pérez-Silva *et al.* (2015) reportaron la presencia de *X. affinis* en 19 estados; *X. volvulus* en 21 y *X. spinulosus* en 9 estados de México. Ninguna de las tres especies se reportó para el estado de Colima, donde únicamente existen

antecedentes de la presencia de *Xyleborus palatus* Wood, 1974; aunque Wood (1982) mencionó que *X. affinis* y *X. volvulus* se encuentran en todos los estados de nuestro país.

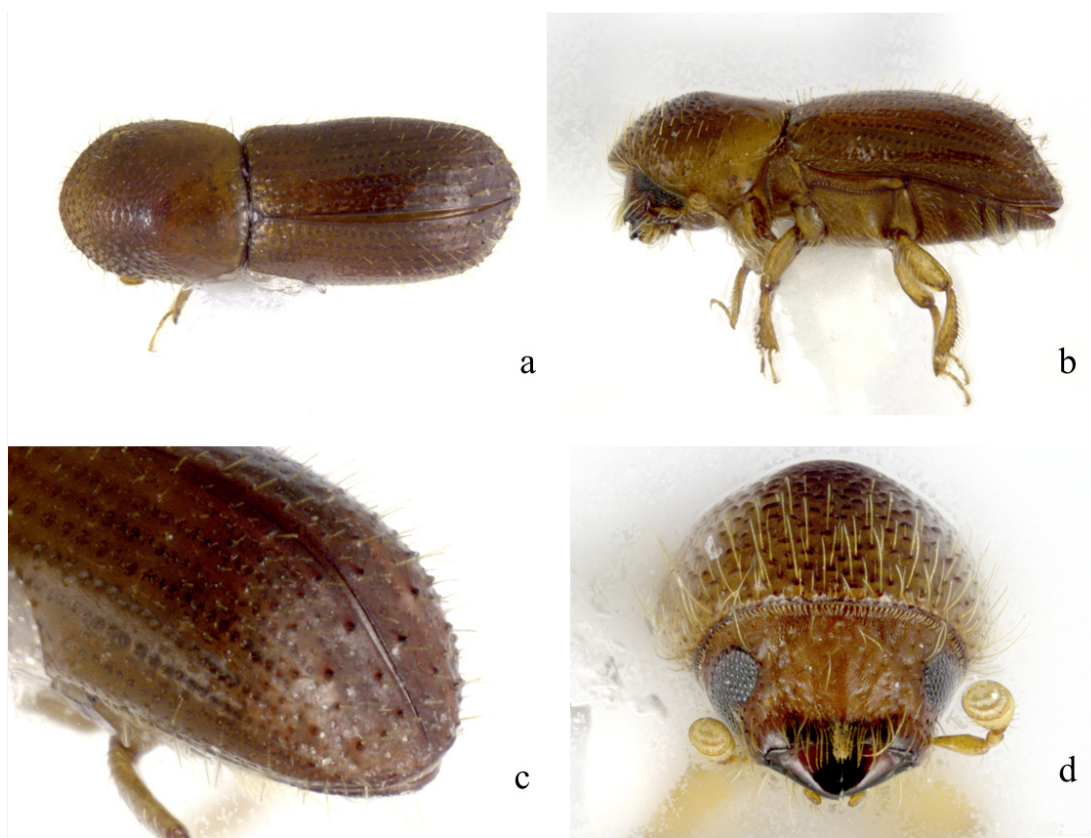


Fig. 16. Hembra de *Xyleborus affinis* a) Dorsal; b) Lateral; c) Posterolateral; d) Frontal.
(Tomado de Castrejón *et al.*, 2017b)

El presente trabajo, contribuye al inventario de especies de Pérez-Silva *et al.* (2015) y proporciona evidencia a lo mencionado por Wood (1982) mediante una publicación en el Acta Zoológica Mexicana (Castrejón *et al.* 2017), además de que aportar nueva información para el estado de Colima con respecto a los escarabajos ambrosiales, denotando la presencia de especies que son consideradas vectores potenciales de *R. lauricola*, por lo que su monitoreo debe ser fortalecido tomando en consideración que su identificación se realizó a partir de árboles de aguacate en producción.

7.4. Virulencia de *Beauveria bassiana* contra *Xyleborus affinis* aplicado por aspersión

Las hembras de *X. affinis* fueron susceptibles a la infección por *B. bassiana* cuando se inocularon con una concentración de 1×10^8 conidios mL^{-1} , utilizando una aplicación por aspersión como método de inoculación. La tasa de mortalidad promedio ($n = 100$) entre las cepas de *B. bassiana* evaluadas osciló entre 40 y 58% (Tabla 7). Las cepas CHE-CNRCB 485, 171 y 431 causaron tasas de mortalidad superiores al 40%, con tasas de mortalidad de $58 \pm 13.7\%$, $48 \pm 9.0\%$ y $48 \pm 9.7\%$, respectivamente. La cepa CHE-CNRCB 44 tuvo el efecto más bajo sobre la mortalidad ($40 \pm 13.3\%$).

Tabla 7. Virulencia de cuatro cepas de *Beauveria bassiana* contra hembras de *Xyleborus affinis*.

Tratamiento	Parámetros ¹					
	Mortalidad (%)	Micosis (%)	k (d^{-1})	t_0 (d)	LT ₄₀ (d)	Conidios/insecto ($\times 10^7$)
44	40 ± 13.3^b	12 ± 10.9^b	0.29 ± 0.04^a	1.95 ± 0.6^a	7.97 ± 2.5^a	0.47 ± 0.3^a
171	48 ± 9.0^{bc}	15 ± 7.9^{bc}	0.37 ± 0.15^a	3.05 ± 1.1^{ab}	9.62 ± 2.8^a	1.62 ± 0.7^{ab}
431	48 ± 9.7^{bc}	25 ± 12.7^{cd}	0.52 ± 0.03^a	4.78 ± 0.2^b	6.49 ± 2.1^a	4.74 ± 0.8^c
485	58.7 ± 13.7^c	30 ± 4.1^d	0.58 ± 0.01^a	2.93 ± 0.07^{ab}	5.32 ± 0.2^a	0.82 ± 0.08^{ab}
Control	19.6 ± 2.7^a	0^a	-	-	-	-

¹ k = tasa de mortalidad específica (d^{-1}); t_0 = tiempo de retraso (d); LT₄₀ = tiempo promedio para alcanzar un 40% de mortalidad. Media \pm DS en una misma columna seguida de la misma letra superior no fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

La mortalidad registrada en el control fue de $19.6 \pm 2.7\%$. Para confirmar que la mortalidad de los escarabajos se debía a la infección por *B. bassiana*, los cadáveres se lavaron y se incubaron dentro de una cámara humificada, para promover la micosis.

EL desarrollo de micelio aéreo de *B. bassiana* en cadáveres de escarabajos osciló entre el 12% (cepa CHE-CNRCB 44) y el 30% (cepa CHE-CNRCB 485) (Fig. 17). Estos porcentajes resultan bajos, sin embargo, es importante señalar que algunos de los escarabajos que no presentaron crecimiento de micelio de *B. bassiana* si presentaron el desarrollo del hongo simbionte que portan. Trabajos como los de Castrillo *et al.* (2016) demuestran que algunos hongos simbiontes aislados de ambrosiales pueden limitar, *in vitro*, el desarrollo de *B. bassiana*. De igual manera Carrillo *et al.* (2015) reportan baja micosis por *B. bassiana* bajas, de entre el 18.7 y el 22.7% atribuyendo lo anterior a

múltiples factores como la luz, temperatura, humedad relativa y la presencia de microorganismos saprófitos. Sin embargo, a través del análisis molecular se pudo determinar que entre un 94.1 y 96.4% los insectos presentaban material genético de *B. bassiana*.

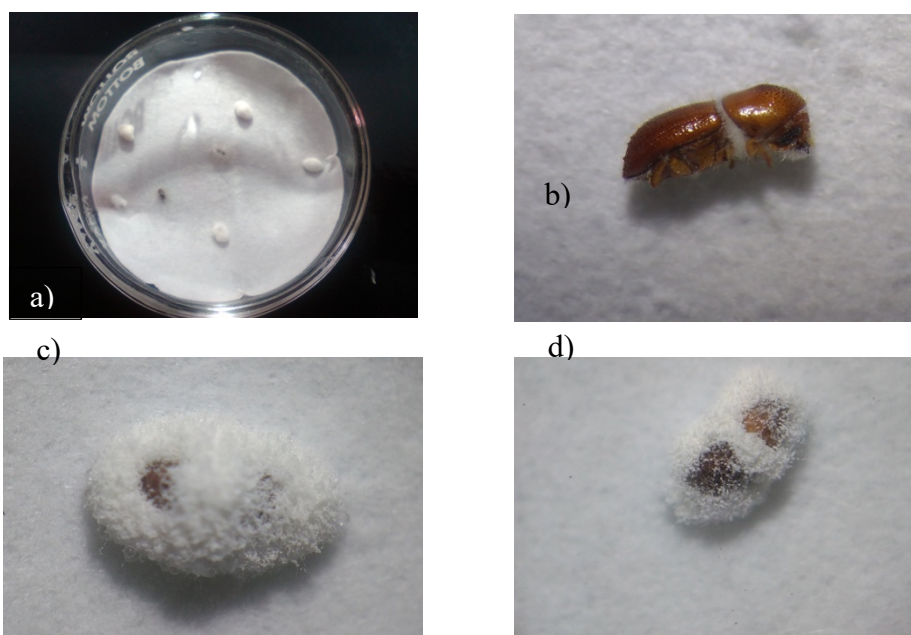


Fig. 17. Bioensayos con *Xyleborus affinis*. a) b), c) y d) Hembras de *X. affinis* micozadas por *B. bassiana*.

Para las cepas CHE-CNRCB 485 y 171, se estimó un tiempo letal 40 (LT₄₀) entre 5.32 y 9.62 d, respectivamente. La cepa CHE-CNRCB 485 causó la tasa de mortalidad más alta ($k = 0.58$), mientras que el tiempo de inicio de muerte fue menor con la cepa CHE-CNRCB 44 ($t_0 = 1.95$).

Los escarabajos tratados con la cepa CHE-CNRCB 431 comenzaron a morir alrededor del quinto día después del tratamiento. Los conidios contabilizados en cada escarabajo micozado mostró que la misma cepa CHE-CNRCB 431 tubo la mayor producción de conidios ($4.74 \pm 0.8 \times 10^7$ conidios insecto⁻¹).

Al analizar los resultados del ACP de la segunda etapa de selección y los parámetros de mortalidad se observa que la cepa CHE-CNRCB 485 tuvo la mayor actividad enzimática y dio como resultado la mayor mortalidad de escarabajos entre las cuatro cepas seleccionadas. Esa misma cepa, además de la 431 (la segunda que muestra la producción enzimática más alta) resultaron con el mayor porcentaje de micosis entre

los insectos tratados. Las observaciones anteriores sugieren que las enzimas relacionadas con la degradación de la cutícula son un indicador adecuado de mortalidad como lo indicó previamente Zare *et al.* (2014).

Con base en este análisis, se sugiere que durante la selección de HEP para el desarrollo de micoinsecticidas, los perfiles de producción de hidrolasas por las cepas candidatas son cruciales para su elección, y posiblemente es conveniente considerar otras enzimas hidrolíticas adicionales involucrados en el proceso infeccioso, como lo son lipasas, catalasas o citocromos (Ortíz-Urquiza y Keyhani, 2013; Keyhani 2017). Además, la estrategia de selección seguida en este trabajo tiene la ventaja de que los hongos elegidos tiene un crecimiento favorable en los sustratos evaluados.

Durante la valoración de los niveles de actividad insecticida de los entomopatógenos, debemos considerar la forma de aplicación de las unidades infecciosas, así como las condiciones que experimenta el insecto durante el tiempo de la evaluación (Ver tabla comparativa Anexo 6). En este trabajo, se utilizó la aspersión directa de unidades infectivas sobre el escarabajo, los cuales fueron liberados sobre dieta artificial, con el propósito de darles condiciones para generar galerías y reproducir sus alimentos durante el tiempo del bioensayo.

El uso de este protocolo tiene las características de asperjar pequeñas cantidades de conidios mediante la pulverización en la Torre de Potter y la de permitir a los insectos de liberarse de los conidios debido al contacto con la dieta, durante la construcción de las galerías. Bajo esas condiciones, la actividad insecticida que se logró alcanzar fue inferior a los reportados por otros investigadores que utilizaron cepas comerciales de *B. bassiana* en otras especies de escarabajos ambrosiales. Por ejemplo, Carrillo *et al.* (2015) reportaron rangos de mortalidad entre 54.7-70.7% para *X. glabratus* que se expuso a la cepa *B. bassiana* GHA (BotaniGard ES); mientras que Castrillo *et al.* (2011, 2013) reportaron rangos de mortalidad de 6-60% para *Xylosandrus germanus* con *B. bassiana* GHA y 76.7-95.6% para *Xylosandrus crassiusculus*, usando Naturalis®. Si consideramos que trabajos como los de Bett *et al.* (2009) y los de Darbro *et al.* (2011) han demostrado que los bioensayos mediante aspersión con aerógrafos reducen la cantidad de conidios hasta en un 99% por efecto del aire, podríamos considerar que la deposición de las unidades infectivas sobre los insecto en nuestros experimentos fue poco, reflejándose en los niveles

de mortalidad observado. Sin embargo, hay que tomar en cuenta que la Torre de Potter es un instrumento diseñado específicamente para el desarrollo de ensayos por pulverización, no tratándose de un instrumento improvisado como los aerógrafos. De esta manera, la explicación de la baja actividad insecticida de las cepas de *B. bassiana* evaluadas sobre *X. affinis*, muy probablemente es por el efecto de remoción de los conidios en la dieta durante la construcción de las galerías.

Además de lo anterior, se debe tomar en cuenta que los protocolos de los bioensayos de los trabajos arriba mencionados fueron diferentes, algunos utilizaron la inoculación por inmersión (Carrillo *et al.* 2015) o aspersión (Castrillo *et al.* 2011, 2013), manteniendo a los insectos durante el tiempo del bioensayo solo con papel filtro húmedo, sin alimento; una condición que pone a los escarabajos bajo estrés constante, al comprometer su sistema inmunológico y hacerlos vulnerables a la infección por microorganismos (Adamo *et al.* 2016; Deans *et al.* 2017).

Consideramos que el método de bioensayo sobre dieta artificial simula mejor la interacción del entomopatógeno con el escarabajo y nos permite determinar el efecto bajo su ecología críptica y que la baja actividad insecticida de las cepas no se debe más que a las interacciones del insecto con su medio.

7.5. Efecto de *B. bassiana* sobre la progenie

Aunque la evidencia de la susceptibilidad de los insectos a los agentes de control biológico como los HEP son información valiosa, para el caso de los escarabajos ambrosiales, que presentan un comportamiento activo y críptico, se requiere de datos adicionales que nos permitan también estimar el impacto del agente de control biológico sobre su descendencia.

7.5.1 Mortalidad de adultos de *X. affinis*

El rango de mortalidad observada sobre hembras de *X. affinis* fue entre el 3.4 y el 50.3 % (Tabla 8). Para las dosis más bajas, únicamente la cepa CHE-CNRCB 44 fue la que mostró los niveles de mortalidad superiores al testigo, con un 16.6%, estadísticamente diferente con los otros tratamientos a la misma dosis ($p < 0.01$). En todas las cepas

evaluadas, se observó que el incremento en la dosis del inóculo se asoció con un aumento en la mortalidad de los insectos. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para las cuatro cepas a la dosis máxima de 1×10^9 conidios mL^{-1} ($F = 2.646$; $p = 0.12$).

Tabla 8. Mortalidad de hembras de *Xyleborus affinis* en ensayos en dieta artificial inoculados por método de inmersión.

Tratamiento	Dosis*			
	2×10^6	1×10^7	1×10^8	1×10^9
Testigo		6.3 ± 2.8^A		
CHE-CNRCB 44	16.6 ± 3.1^{aB}	27.9 ± 4.3^{abB}	33.4 ± 1.7^{bB}	43.3 ± 8.4^{cB}
CHE-CNRCB 171	3.4 ± 1.6^{aA}	11.1 ± 1.2^{bC}	16.7 ± 3.1^{bC}	36.7 ± 2.3^{cB}
CHE-CNRCB 431	5.5 ± 2.4^{aA}	16.7 ± 2.1^{bC}	22.3 ± 3.2^{bC}	42.2 ± 5.1^{cB}
CHE-CNRCB 485	5.6 ± 2.3^{aA}	11.3 ± 4.8^{aC}	39.9 ± 5.7^{bB}	50.3 ± 6.3^{cB}

*Los valores con la misma letra minúscula en las filas no presentan diferencia significativa. Los valores con la misma letra mayúscula en las columnas no presentan diferencia significativa.

En estos bioensayos se observa que a dosis de 1×10^8 conidios mL^{-1} se produjo una mortalidad menor a la que se reportó en los ensayos mediante aspersión. Contrario a lo que se pudo pensar, la inoculación por inmersión debió de haber generado una mortalidad mayor, esto debido a la cantidad de unidades infectivas adheridas al insecto, el cual rondó la magnitud de 10^4 conidios por insecto, un valor similar a lo reportado por Carillo *et al.* (2015). Sin embargo, hay que considerar que los resultados en dichos ensayos no pueden compararse del todo debido a que se emplearon diferentes modalidades de seguimiento a los insectos. Mientras que con la aspersión fueron manipulados cada dos días, con la finalidad de poder dar seguimiento a su mortalidad; con la inmersión no fue así. También podemos observar que la mortalidad del grupo testigo en los primeros ensayos (19.6%) fue mayor a los segundos (6.3%). Si hubiésemos realizado una corrección mediante la ecuación de Abbot el efecto del testigo se hubiera restado en los tratamientos y la mortalidad resultante sería menor en los primeros ensayos que en los segundos. Lo anterior no se realizó ya que consideramos aplicar la corrección de Abbot únicamente cuando la mortalidad en el testigo fuera menor al 5%. Por arriba de ese valor se optó por hacer la prueba de ANDEVA incluyendo al testigo entre los grupos a comparar. Lo anteriormente descrito demuestra como, además de los métodos de aplicación de los HEP,

la forma de darle seguimiento a los insectos infestados en los ensayos es de suma importancia. Siendo aspectos que son poco considerados en ensayos con insectos crípticos.

El efecto del hongo sobre la cantidad de larvas contabilizadas no fue clara para todas las cepas (Tabla 9). No encontrando relación entre las dosis evaluadas. Con la cepa CHE-CNRCB 44 la diferencia entre el número de larvas no fue estadísticamente significativo sino hasta la dosis máxima de 1×10^9 conidios mL^{-1} ($p = 0.023$). Caso contrario con el resto de los hongos, donde a pesar de que el valor promedio de larvas disminuye al incrementar la dosis del hongo, la evidencia no es suficiente para poder establecer diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.82$). Por otro lado, al comparar la cantidad de larvas del testigo con respecto a los tratamientos con *B. bassiana*, las cepas CHE-CNRCB 44, 431 y 485 exhibieron el mejor efecto, mostrando diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Tabla 9. Número de larvas de *Xyleborus affinis* desarrollados en dieta artificial a partir de hembras infestadas con *Beauveria bassiana*.

	Dosis*			
	2×10^6	1×10^7	1×10^8	1×10^9
Testigo			18.8 ± 6.2^A	
CHE-CNRCB 44	13.6 ± 2.0^{aA}	12.7 ± 4.0^{aA}	10.5 ± 3.2^{aA}	1.3 ± 0.7^{bBC}
CHE-CNRCB 171	19.6 ± 1.2^{aA}	13.6 ± 5.1^{acA}	14.4 ± 2.8^{acA}	8.8 ± 1.3^{bcAC}
CHE-CNRCB 431	14.2 ± 2.5^{aA}	14.3 ± 2.2^{aA}	10.5 ± 3.1^{aA}	7.7 ± 5.4^{aBC}
CHE-CNRCB 485	16.5 ± 2.2^{aA}	10.5 ± 2.1^{aA}	10.3 ± 1.6^{aA}	8.3 ± 1.8^{aBC}

*Los valores con la misma letra minúscula en las filas no presentan diferencia significativa. Los valores con la misma letra mayúscula en las columnas no presentan diferencia significativa.

Para el caso de la cantidad de huevos producidos, de igual forma se observó que únicamente con la dosis más alta evaluada se encontró una diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo testigo (Tabla 10). En el grupo de la dosis más baja los tratamientos CHE-CNRCB 171, 431 y 485 presentan mayor número de larvas que el tratamiento testigo.

Tabla 10. Número de huevos de *Xyleborus affinis* desarrollados en dieta artificial a partir de hembras infestadas con *Beauveria bassiana*.

Tratamiento	Dosis*			
	2×10^6	1×10^7	1×10^8	1×10^9
Testigo			9.3±2.4 ^A	
CHE-CNRCB 44	8.3±0.9 ^{aA}	6.7±0.5 ^{abA}	5.3±1.7 ^{abA}	3.2±1.8 ^{bb}
CHE-CNRCB 171	14.1±1.0 ^{aB}	10.5±1.8 ^{bA}	5.9±1.2 ^{cA}	2.4±0.1 ^{dB}
CHE-CNRCB 431	14.3±1.5 ^{aB}	8.8±1.3 ^{bA}	5.3±1.0 ^{bA}	1.7±0.4 ^{cB}
CHE-CNRCB 485	18.9±1.3 ^{aC}	10.8±2.5 ^{bA}	4.3±1.0 ^{cB}	1.2±0.6 ^{cB}

*Los valores con la misma letra minúscula en las filas no presentan diferencia significativa. Los valores con la misma letra mayúscula en las columnas no presentan diferencia significativa.

Fue la dosis de 1×10^9 conidios mL^{-1} a la cual se logró obtener un mayor impacto sobre adultos de *X. affinis* en el número de inmaduros. Aunque se trata de una concentración poco utilizada en campo, se consideró en este estudio para conocer su impacto en la progenie de *X. affinis*. Sin embargo, las aplicaciones en campo normalmente no alcanzan esas coberturas. Las aspersiones comúnmente con *B. bassiana* están en el orden de 1×10^7 conidios mL^{-1} . Por otra parte, las aplicaciones se realizan en las plantas hospederas y no necesariamente existe contacto directo con los escarabajos ambrosiales (Peña *et al.* 2011; Carrillo *et al.* 2013).

7.5.2 Remoción de conidios por efecto de los bioensayos en dieta

La cantidad de conidios adheridos a los escarabajos posterior a la inoculación por inmersión se observa en la Fig. 18. Después de 24 h, los insectos presentaron entre 50 y 96% menos de las unidades infectivas iniciales, y fue dependiente de la concentración del inóculo inicial. No se hallaron conidios con la dosis más baja, a las 48 h, mientras que para el resto de las dosis no fue sino hasta las 72 h cuando no se contabilizaron conidios. En todos los casos, la viabilidad de las unidades infectivas fue entre el 90 y 95%.

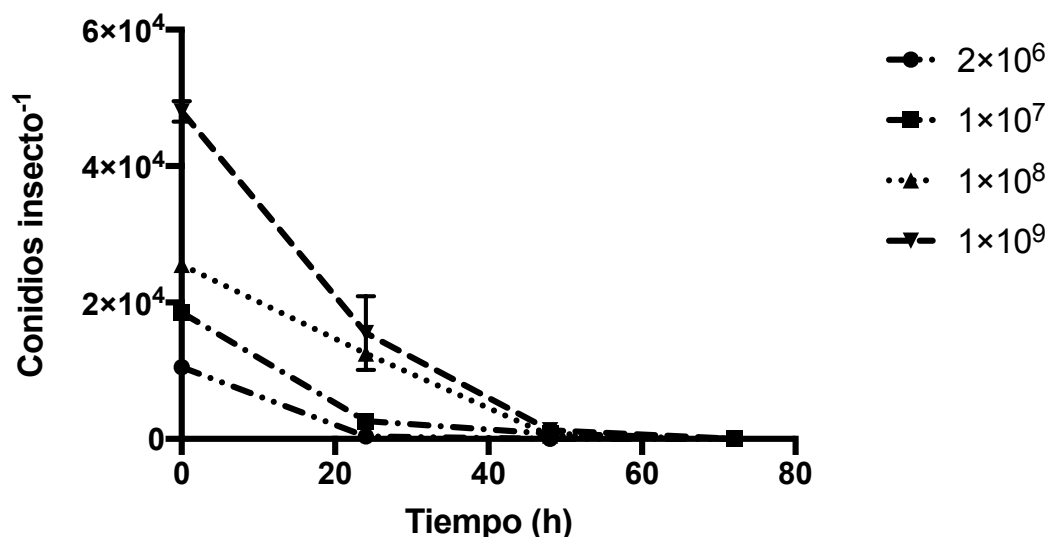


Fig. 18. Conidios adheridos a la superficie de hembras de *Xyleborus affinis* inoculadas con diferentes dosis de *Beauveria bassiana* CHE-CNRCB 44.

A los insectos se les provee condiciones para generar galerías en un medio artificial, este escenario origina que las unidades infectivas que logran adherirse al cuerpo del insecto puedan ser removidos hacia el medio para ser extraídos posteriormente durante las actividades de construcción y limpieza de las galerías. Al final, la cantidad de conidios sobre los insectos es insuficientes para que se logre una adecuada infección. Esta aseveración se confirma con los presentes resultados obtenidos, donde se observó que la remoción fue mayor a dosis más bajas. A concentraciones del orden de 10^9 la remoción alcanza hasta el 50% de la inoculación inicial.

Al considerar las observaciones antes descritas, nos damos cuenta que la cantidad de inóculo que se puede transmitir a la progenie es escasa, lo que podría explicar el bajo impacto sobre el número de larvas encontradas en las colonias para todas las dosis evaluadas. Podemos inferir que, aunque podamos lograr un impacto sobre los escarabajos adultos de manera directa con el empleo del hongo, como lo muestran los resultados de mortalidad, no se generará un cambio sobre su conducta y no se evita que las hembras ovipositen en las galerías, ni que emerjan y se desarrollen las etapas larvarias. Aunque a los 10 d se puede observar una relación inversa entre el número de huevos con respecto a las dosis de los hongos empleadas, es posible entender que las ovipostura se ven disminuidas por efecto de la mortalidad sobre las hembras. Por otra parte, el hecho de haber encontrado larvas sanas en las galerías, inclusive con hembras micozadas dentro de

las mismas, refleja el poco impacto que se pueden tener en la progenie por efecto del tratamiento con HEP. Es necesario dilucidar conocer las condiciones dentro de las galerías, principalmente de oxigenación y determinar si bajo las mismas es posible el desarrollo de *B. bassiana*.

La inoculación de *B. bassiana* por inmersión de hembras de *X. affinis* que se desarrolló en estos experimentos representa una alternativa de dilucidar algunos aspectos sobre el efecto de la progenie en los ambrosiales. Queda claro que si una inmersión en las unidades infectivas genera poco impacto sobre los *X. affinis*, otras formas de inoculación, como la aspersión o la inoculación indirecta mediante superficies contaminadas, proporcionarán un impacto menor. Sobre este punto Castrillo *et al.* (2011) parecen demostrar lo contrario, al determinar que las cepas de *B. bassiana* Naturalist y GHA asperjadas sobre *Xylosandrus germanus* tienen un impacto en el número de progenie (huevo/adulto) siendo la segunda de esas cepas la de mayor efecto. Sin embargo, la estrategia empleada por el grupo de trabajo mencionado favorece la infección del hongo sobre los insectos, al dejarlos durante 24 h posterior a la inoculación, sobre un papel filtro húmedo para después liberarlos en dieta artificial. De acuerdo con los autores lo anterior se realizó para minimizar el riesgo de remoción del inoculó en las hembras antes de que el HEP pudiera penetrar su cutícula. Al favorecer el desarrollo del HEP sobre el insecto se genera la incertidumbre del papel del comportamiento del insecto sobre el entomopatógeno adherido en su superficie y por lo tanto sobre su verdadero efecto insecticida. Información que es importante para poder extrapolar su impacto en condiciones de campo. Es por ello que los experimentos realizados en este trabajo se procuró el empleo de dieta artificial para que el insecto pudiera desarrollar su ciclo biológico, como ocurre en su nicho natural.

7.6. Formulación

En total se evaluaron 63 emulsiones. Se seleccionó el tratamiento (E60), que fue el que presentó las mejores características (estabilidad, viscosidad, conductividad); además que para su preparación se utilizó el mínimo de insumos. Las proporciones de las

mezclas y las características determinadas a cada una de las emulsiones se muestran en el Anexo 7.

7.6.1 Compatibilidad de *B. bassiana* en emulsión invertida

Los formulados presentaron una viabilidad promedio de 80% después de tres días de haberse preparado, no encontrando diferencias significativas entre las cuatro cepas ($p = 0.36$). Después de los siete días de almacenamiento a 25 °C, la viabilidad se redujo hasta en un 30% (Fig. 19).

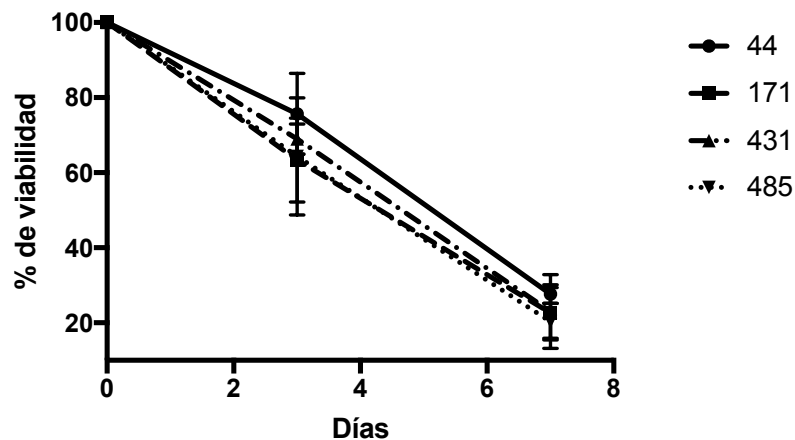


Fig. 19. Cinética de viabilidad de *Beauveria bassiana* formulada en una emulsión invertida y almacenada a 25 °C.

7.7. Virulencia de *B. bassiana* formulado mediante bioensayo en papel filtro

Para los ensayos de actividad insecticida en esta etapa se sometieron a prueba únicamente dos cepas: la CHE-CNRCB 44 y 485, elegidas por ser aquellas que en las pruebas de actividad biológica manifestaron la menor y mayor mortalidad (Tabla 7) respectivamente. En la Fig. 20 se observa que no se encontró una diferencia significativa de la mortalidad a los 10 d generada con los tratamientos con solución de Tween 80 y con la emulsión invertida ($p = 0.43$). Aunque la respuesta media de la cepa CHE-CNRCB 485 formulada tiende a ser mayor, no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$).

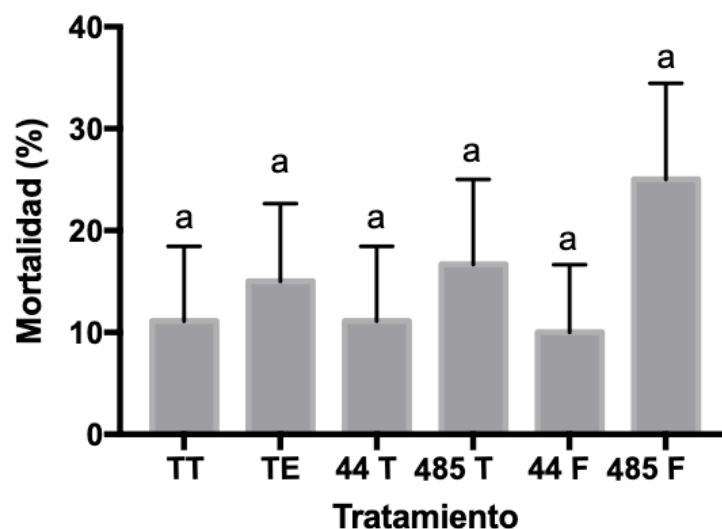


Fig. 20. Mortalidad de hembras de *Xyleborus affinis* con formulados de *Beauveria bassiana* sobre una emulsión invertida. TT: Testigo tween; TE: Testigo emulsión; 44T: CHE-CNRCB 44 en Tween; 485T: CHE-CNRCB 485 en Tween; 44F: CHE-CNRCB 44 Formulado; 485F: CHE-CNRCB 4485 Formulado.

De igual manera no se encontró diferencias estadísticas significativas ($p = 0.21$), en el número de huevos contabilizados en cada uno de los tratamientos (Fig. 21). Sin embargo, y a pesar de la falta de diferencia se puede observar una tendencia a tener un valor promedio mayor de huevos en los tratamientos formulados, que los que están suspendidos únicamente en Tween.

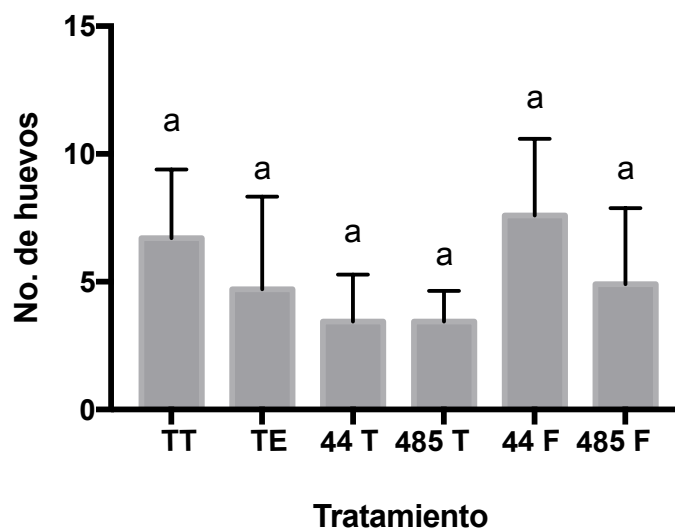


Fig. 21. Número de huevos de *Xyleborus affinis* presentes en dieta artificial a partir de hembras infestadas con formulados de *Beauveria bassiana*. TT: Testigo tween; TE: Testigo emulsión; 44T: CHE-CNRCB 44 en Tween ;485T: CHE-CNRCB 485 en Tween; 44F: CHE-CNRCB 44 Formulado; 485F: CHE-CNRCB 4485 Formulado.

En relación al número de larvas contabilizadas (Fig. 22) al finalizar el bioensayo se observa un incremento en la producción de huevos con algunos tratamientos como se observó con la cepa CHE-CNRCB 485 formulada y la CHE-CNRCB 44.

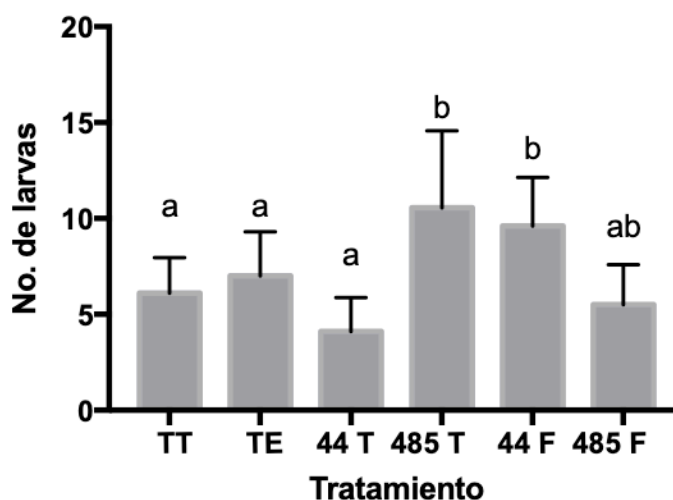


Fig. 22. Número de larvas de *Xyleborus affinis* presentes en dieta artificial a partir de hembras infestadas con formulados de *Beauveria bassiana*. TT: Testigo tween; TE: Testigo emulsión; 44T: CHE-CNRCB 44 en Tween ;485T: CHE-CNRCB 485 en Tween; 44F: CHE-CNRCB 44 Formulado; 485F: CHE-CNRCB 4485 Formulado.

Las emulsiones invertidas buscan mantener la hidratación de las unidades infectivas en un núcleo acuoso suspendido en un medio oleoso (Pautot *et al.* 2003). Este tipo de emulsiones han sido previamente utilizadas en la formulación de diversos microorganismos empleados como plaguicidas y evaluadas contra diversas insectos, obteniendo una adecuada potenciación de la actividad comparada con los agentes controladores sin formular (Amsellen *et al.* 1991; Connick Jr *et al.* 1991; Womack *et al.* 1996; Batta 2004, 2007). Los reportes de Batta (2003, 2005, 2007, 2011) se encuentran entre las más representativas, donde se incluyen formulaciones de *Metharizium anisopliae* para el control de *Bemisia tabaci* Genn. (Hemiptera: Aleyrodidae); *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Batta 2003) y de *Rhizoperta dominifa* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) (Batta, 2005). En el 2011, este mismo autor reportó la formulación y evaluación de *Zoophtera radicans* (Brefeld) Bakto (Zygomycetes: Entomophtorales) para el control de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). Posteriormente en 2007, reportó la formulación de *B. bassiana* para el manejo de *Scolytus amygdali* Geurín-Méneville (Coleoptera: Scolytidae) (Batta 2007). Dicho trabajo se tomó como referencia

para esta investigación y dio pauta al interés por evaluar las emulsiones invertidas para la formulación de *B. bassiana*, disponiendo a partir de las publicaciones del autor de la metodología a emplear así como con los ingredientes y proporciones empleadas en las formulaciones (Batta 2007, Batta 2016). Sin embargo, en México no fue posible conseguir el producto Dehymuls K[®], un agente emulsionante para emulsiones W/O, por lo que se optó por emplear otros ingredientes para sustituirlo, y los cuales se muestran en el Anexo 7. Se logró obtener una emulsión W/O que aun cuando la viabilidad de *B. bassiana* en ella disminuyó hasta el 30% después de 7 d, contrasta con los resultados de Batta (2007) que logró mantener la viabilidad de dos cepas de *B. bassiana* entre el 82 y el 88.4% después de 12 semanas a una temperatura de 25 °C. Posiblemente los ingredientes que empleamos para sustituir a Dehymuls K[®] no generaron condiciones propicias para la latencia de las unidades infectivas.

Por otra parte, Batta (2007) en sus ensayos con *B. bassiana* sobre *S. amygdalis*, reportó que la cepa 149 a una concentración de 1.5×10^8 conidios mL⁻¹ genera una mortalidad del 100%, que es significativamente mayor al 60% que ocasiona la misma cepa en suspensión en agua. Nuestros resultados contrastan con lo antes descrito. Sin embargo, hay que considerar las características de los ensayos realizados por Batta (2007). En nuestro estudio la metodología propuesta de aplicación pretende medir el efecto de los tratamientos sobre los insectos bajo condiciones que simulen a las técnicas de aplicación que se llevan en campo, esto es, asperjar el tronco del árbol hospedero. Es por ello que las unidades infectivas fueron asperjadas en superficies sobre las cuales después se hicieron caminar a los escarabajos. Por su parte, Batta (2007) realizó sus ensayos manteniendo a los insectos en condiciones de ayuno durante 10 d, durante este tiempo los insectos caminaban sobre la superficie asperjada con el HEP. Por el contrario, en nuestros ensayos, en donde el tiempo que se les permitió caminar sobre el papel filtro asperjado fue de 1 h y el ensayo se desarrolló sobre dieta artificial. El tiempo de exposición sobre el HEP fue tomado de la evidencia publicada por Carrillo *et al.* (2015) con respecto al tiempo que ocupan los escarabajos para explorar un tronco antes de iniciar su perforación. Resulta claro que los porcentajes de mortalidad aumenten cuando los insectos están bajo condiciones de ayuno y a tiempos prolongados de contacto con el entomopatógeno. Sin embargo, hay que señalar que la mortalidad en los tratamientos testigos de Batta (2007)

fueron del 16.7%, lo que le da validez a sus resultados. De nuestra experiencia con *X. affinis*, se demuestra que esta especie es incapaz de sobrevivir por más de 3 días en condiciones de ayuno (datos no publicados).

Un dato adicional que se pudo determinar fue la cantidad de unidades infectivas adheridas a los insectos después de haber caminado sobre superficies tratadas con las cepas CHE-CNRCB 44 y 485 (Fig. 23). Se observó que los formulados propiciaron una menor adherencia de conidios al cuerpo de *X. affinis*, en contraste con la suspensión en Tween 80 al 0.05%, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Estos resultados podrían relacionarse con la baja actividad insecticida encontrada. Era de esperarse que el medio oleoso de la emulsión invertida pudiere favorecer la interacción con la cutícula hidrofóbica del insecto y de esta manera permitir una mayor adherencia de unidades infectivas sobre el cuerpo de *X. affinis*. Sin embargo, los experimentos demuestran un comportamiento contrario. Es posible que se presente incompatibilidad de algunos de los compuestos de la emulsión con la cutícula de los insectos o que pudiera existir una absorción total del producto en el papel filtro empleado para los ensayos.

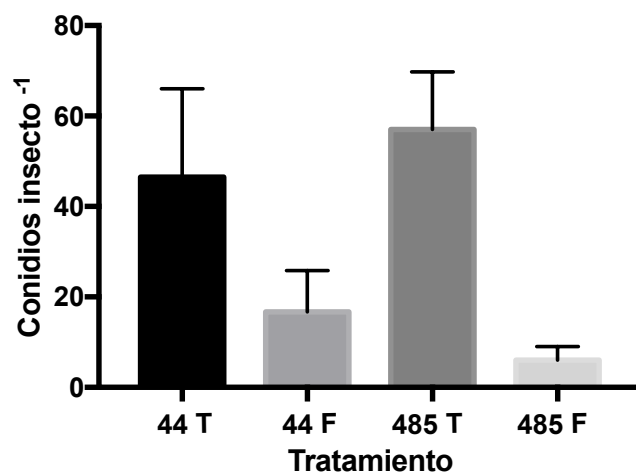


Fig. 23. Número de conidios por insecto en los tratamientos evaluados. 44T: CHE-CNRCB 44 en Tween; 485T: CHE-CNRCB 485 en Tween; 44F: CHE-CNRCB 44 Formulado; 485F: CHE-CNRCB 4485 Formulado.

VIII. CONCLUSIONES GENERALES

- *Xyleborus affinis* es una especie de escarabajo ambrosial nativo del estado de Colima que puede generar daños en árboles de aguacate en producción.
- Es posible emplear una estrategia de selección de cepas del hongo *Beauveria bassiana* a partir de la evaluación de atributos de crecimiento y de factores de virulencia empleando en análisis de componentes principales como una herramienta estadística exploratoria.
- Hembras de *X. affinis* son susceptibles a las cepas CHE-CNCB 44, 171, 431 y 485 de *B. bassiana* ubicadas en la Colección de Hongos Entomopatógenos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB).
- Las mortalidades de *X. affinis* por las cepas de *B. bassiana* del CNRCB están en el rango del 40 al 58 % y TL_{40} de 5.32 a 9.62 d.
- Dosis del orden de 1×10^9 conidios mL^{-1} de *B. bassiana* impactan significativamente sobre la progenie de *X. affinis*.
- La actividad de construcción de galerías por *X. affinis* genera una disminución de las unidades infectivas de *B. bassiana* adheridas al cuerpo de las hembras.
- Los bioensayos con *X. affinis* sobre dieta artificial proporcionan información adicional sobre la interacción de dicho insecto con *B. bassiana*.
- Las emulsiones invertidas proporcionan una viabilidad del 30% de las cepas CHE-CNRCB después de 7 d de formuladas.

IX. PERSPECTIVAS

Los estudios aquí desarrollados con HEP para el control de los escarabajos ambrosiales ponen de manifiesto aspectos sobre los cuales se pueden generar expectativas de trabajo principalmente, en lo que respecta a las metodologías de bioensayo y las formulaciones.

Se deben generar estrategias de bioensayos que proporcionen información más certera sobre el impacto de los agentes de control sobre la plaga, evitando el uso de condiciones de ayuno mediante el empleo de dietas artificiales. De igual manera los ensayos haciendo caminar a los escarabajos ambrosiales sobre superficies contaminadas (de preferencia corteza de árboles hospederos) aportarán mayor información adicional sobre la interacción de estos con los entomopatógenos.

Es necesario determinar si las condiciones críticas de las galerías de los escarabajos ambrosiales son propicias para el desarrollo de los HEP y poder elucidar si su efecto se ve o no disminuido, por ejemplo, por condiciones de baja tensión de oxígeno o por la presencia de metabolitos de los hongos simbioses que se cultivan en las galerías.

Es necesario seguir explorando alternativas adicionales de formulación para *B. bassiana* que permita, además de mantener su vida de anaquel, la potenciación de su virulencia. Se debe de determinar la cantidad de unidades infectivas que se adhieren al insecto producto de las formulaciones candidatas y considerar a este un posible mecanismo de acción de las mismas. Además de considerar las características técnicas de los equipos para aplicar dichas formulaciones. Lo anterior en virtud de que las emulsiones invertidas son viscosas y puede no ser favorable al momento de aplicarse con equipos convencionales de aspersión.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Abbott** WS. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economical Entomology* 18: 265–267.
- Adamo** SA, Davies G, Easy R, Kovalko I, Turnbull KF. 2016. Reconfiguration of the immune system network during food limitation in the caterpillar *Manduca sexta*. *Journal of Experimental Biology* 219: 706-718.
- Almeida** JEM, Alves SB, Pereira RM. 1997. Selection of *Beauveria* spp. isolates for control of the termite *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858). *Journal of Applied Entomology* 121: 539-543.
- Amsellen** Z, Sharon A, Gressel J. 1991. Abolition of selectivity of two mycoherbicides organisms and enhanced virulence of avirulence fungi by an invert emulsion. *The American Phytopathological Society* 81(9): 985-988.
- Atkinson** TH. 2015. Bark and Ambrosia Beetles. [On line]. Disponible en : <http://www.barkbeetles.info/about.php>
- Bocanegra** FDA. 2012. Análisis de riesgo del escarabajo ambrosía del laurel (*Xyleborus glabratus* Eichhoff) como una plaga potencial para el cultivo de aguacate. Tesis Maestría en Ciencias. COLPOS, Montecillo, Texcoco, Estado de México. 2012.
- Barrientos- Prieta** AF. 2012. El Aguacate. *CONABIO Biodiversitas* 88: 1-7.
- Batta** YA. 2003. Production and testing of novel formulations of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metschinkoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Crop Protection* 22(2): 415-422.
- Batta** YA. 2004. Effect of treatment with *Trichoderma harzianum* Rifai formulated in invert emulsion on postharvest decay of apple blue mold. *International Journal of Food Microbiology* 96: 281-288.
- Batta** YA. 2005. Control of the lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica* (F.), Coleoptera: Bostrichidae) by treatments with residual formulations of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Journal of Stored Products Research* 41: 221-229.
- Batta** YA. 2007. Biocontrol of almond bark beetle (*Scolytus amygdali* Geurin-Meneville, Coleoptera: Scolytidae) using *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.

- (Deuteromycotina: Hyphomycetes). Journal of Applied Microbiology 103(5): 1406-1414.
- Batta** Y. 2016. Invert emulsion: Method of preparation and application as proper formulation of entomopathogenic fungi. MethodsX (3): 119-127.
- Batta** YA, Rahman M, Powis K, Baker G, Schmidt O. 2011. Formulation and application of the entomopathogenic fungus: *Zoophthora radicans* (Brefeld) Batko (Zygomycetes: Entomophthorales). Journal of Applied Microbiology 110: 831-839.
- Butt** TM, Coates CJ, Dubovskiy IM, Ratcliffe NA. 2016. Entomopathogenic fungi: new insights into host-pathogen interactions. Advances in Genetics 94: 307–364.
- Carrillo** D, Crane JH, Peña JE. 2013. Potential of contact insecticides to control *Xyleborus glabratus* (Coleoptera: Curculionidae), a vector of Laurel Wilt disease in avocados. Journal of Economic Entomology 106(6): 2286-2295.
- Carrillo** D, Dunca R, Ploetz R, Peña JE. 2014a. Lateral transfer of a phytopathogenic symbiont among native and exotic ambrosia beetles. Plant Pathology 63: 54-62.
- Carrillo** D, Dunca R, Ploetz R, Campbell AF, Peña JE. 2014b. Ambrosia beetles associated with laurel wilt-affected avocados. Xalapa, Veracruz, México. Academic and Technical Workshop on *Xyleborus glabratus* and *Euwallacea* sp.
- Carrillo** D, Dunlap C, Avery P, Navarrete J, Dunca R, Jackson M, Peña JE. 2015. Entomopathogenic fungi as biological control agents for the vector of the laurel wilt disease, the redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus* (Coleoptera: Curculionidae). Biological Control 81: 44-50.
- Castrillo** LA, Griggs MH, Ranger CM, Reding ME, Vandenberg JD. 2011. Virulence of commercial strain of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum* (Ascomycota: Hypocreales) against adult *Xylosabndrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae) and impact on brood. Biological Control 58: 121-126.
- Castrillo** LA, Griggs MH, Vandenberg JD. 2013. Granulate ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Coleoptera: Curculionidae), survival and brood production following exposure to entomopathogenic and mycoparasitic fungi. Biological Control 67: 220-226.

- Castrillo** LA, Griggs MH, Vandenberg JD. 2016. Competition between biological control fungi and fungal symbionts of ambrosia beetles *Xylosandrus crassiusculus* and *X. germanus* (Coleoptera: Curculionidae): mycelial interactions and impact on beetle brood production. *Biological Control* 103: 138-146.
- Castrejón-Antonio** JE, Núñez-Mejía G, Iracheta-Cárdenas MM, Tamayo-Mejía F, Ocampo-Hernández JA, Gómez-Flores R, Tamez-Guerra P. 2017a. *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin blastospores produced in a selective culture medium reduce the survival time of *Epilachna varivestis* (Mulsant) larvae. *Southwestern Entomologist* 42: 203-220.
- Castrejón-Antonio** JE, Montesinos-Matías R, Acevedo-Reyes N, Tamez-Guerra P, Ayala-Zermeno MA, Berlanga-Padilla A, Arredondo-Bernal HC. 2017b. Species of *Xyleborus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytidae) recorded in avocado trees in Colima, Mexico. *Acta Zoológica Mexicana (NS)* 33: 146-150.
- Castrejón-Antonio** JE, Montesinos-Matías R, Tamez-Guerra P, Fuentes-Guardiola LF, Laureano-Ahuelican B, Arredondo-Bernal HC. 2018 Infestation of *Xyleborus volvulus* (Fabricius) (Curculionidae: Scolitinae) in *Mangifera indica* L. (Mangifera: Anacardiaceae) in Manzanillo, Colima. *Florida Entomologist* 101 (4): 676-680.
- Camero** COJ, Johansen NR, Retanas SA, García MO, Cantú SM, Carvajal CC. 2010. Thrips (Thysanoptera) del aguacate (*Persea americana*) en Nayarit, México. *Revista Colombiana de Entomología* 31(1):47-51.
- Chavez** EA, Miranda CI, Rodríguez MH. 2017. Dinámica poblacional de ácaros fitófagos y depredadores en aguacatero (*Persea americana* Miller). *Fitosanidad* 21: 9-15.
- Connick Jr** WJ, Daigle DJ, Quimby Jr PC. 1991. An improved invert emulsion with high water retention for mycoherbicide delivery. *Weed Technology* 5(2): 442-444.
- Cooperband** MF, Stouthamer R, Carrillo D, Eskalen A, Thibault T, Cossé AA, Castrillo LA, Vandenberg JD, Rugman-Jones PF. 2016. Biology of two members of the *Euwallacea fornicatus* species complex (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), recently invasive in the U.S.A., reared on an ambrosia beetle artificial diet. *Agricultural and Forest Entomology* 18(3): 223-237.

- Crane** JH, Peña J. 2008. El escarabajo ambrosia (*Xyleborus glabratus*) del laurel rojo y el hongo de la marchitez del laurel (*Raffaelea lauricola*): un problema potencialmente importante para los aguacates en Florida. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Horticultural Sciences Department.
- Crane** JH, Peña JE, Ploetz RC, Palmateer AJ. 2011. Proposed strategies for decreasing the threat of laurel wilt (LW) and its vector, the redbay ambrosia beetle (RAB) to commercial avocado groves in Miami-Dade county. [On line]. Disponible en: <http://www.freshfromflorida.com/content/download/23816/485810/proposed-grove-strategies.pdf>. Accesado el 28 de octubre el 2019.
- Deans** CA, Behmer ST, Tessnow AE, Tamez-Guerra P, Pusztai M, Sword GA. 2017. Nutrition affects insect susceptibility to Bt toxins. Science Report 7: 39705.
- Fang** W, Feng J, Fan Y, Zhang Y, Bidochka MJ, St. Leger RJ, Pei Y. 2009. Expressing a fusion protein with protease and chitinase activities increases the virulence of the insect pathogen *Beauveria bassiana*. Journal of Invertebrate Pathology 102: 155-159.
- Formby** JP, Schieffer TL, Riggins JJ. 2012. First record of *Xyleborus glabratus* (Coleoptera: Curculionidae) in Alabama and in Harrison County, Mississippi. Florida Entomologist 95(1): 192-193.
- García-Ortiz** N, Tlecuítl-Beristain S, Favela-Torres E, Loera O. 2015. Production and quality of conidia by *Metarhizium anisopliae* var. *lepidiotum*: critical oxygen level and period of mycelium competence. Applied of Microbiology and Biotechnology. 99:2783–2791.
- Hanula** JL, Mayfield III AE, Fraedrich SW, Rabaglia RJ. 2008. Biology and host associations of redbay ambrosia beetle (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), exotic vector of laurel wilt killing redbay trees in the southeastern United States. Journal of Economic Entomology 101(4): 1276-1286.
- Harrington** T, Fraedrich S, Aghayeva D. 2008. *Raffaelea lauricola* a new ambrosia beetle symbiont and pathogen on the Laureaceae. Mycotaxon 104: 399-404.
- Harrington** T, Fraedrich S, Aghayeva DN. 2008. *Raffaelea lauricola*, a new ambrosia beetle symbiont and pathogen on the *Lauraceae*. Mycotaxon 104: 399-404.

- Harrington** T, Fraedrich S. 2010. Quantification of propagules of the laurel wilt fungus and other mycangial fungi from the redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus*. *Phytopathology* 100(10): 1118-1123.
- Hulcr** J, Rountree N, Diamond S, Stelinski L, Dunn R. 2012. Mycangia of ambrosia beetle host communities of bacteria. *Invertebrate Microbiology* 64: 784-793.
- Inch** SA, Ploetz RC. 2012. Impact of laurel wilt, caused by *Raffaelea lauricola*, on xylem function in avocado, *Persea americana*. *Forest Pathology* 42(3): 239-245.
- Inglis** GD, Enkerli JUERG, Goettel MS. 2012. Laboratory techniques used for entomopathogenic fungi: Hypocreales. *Manual of techniques in invertebrate pathology* 2: 18-53.
- Kamp** AM, Bidochka MJ. 2002. Conidium production by insect pathogenic fungi on commercially available agars. *Letter of Applied Microbiology* 35(1): 74–77.
- Keyhani** NO. 2017. Lipid biology in fungal stress and virulence: entomopathogenic fungi. *Fungal Biology* 122(6): 420-429.
- Lira-Noriega** A, Soberón J, Equihua J. 2018. Potential invasion of exotic ambrosia beetles *Xyleborus glabratus* and *Euwallacea* sp. in Mexico: A major threat for native and cultivated forest ecosystems. *Science Report* 8: 10179.
- Maner** ML, Hanula JL, Braman SK. 2013. Gallery productivity, emergence and flight activity of the redbay ambrosia beetle (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Environmental Entomology* 42(4): 642-647.
- Mayfield** III A, Peña JE, Crane J, Smith J, Branch C, Ottoson E, Hugues M. 2008. Ability of redbay ambrosia beetle (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) to bore into young avocado (Lauraceae) plants and transmit the laurel wilt pathogen (*Raffaelea* sp.). *Florida Entomologist*, 91(3): 485-487.
- Montesinos-Matías** R, Viniegra-González GG, Alatorre-Rosas R, Loera O. 2011a. Relationship between virulence and enzymatic profiles in the cuticle of *Tenebrio molitor* by 2-deoxy-d-glucose resistant mutants of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 27: 2095-2102.
- Ortiz-Urquiza** A, Keyhani NO. 2013. Action on the surface: Entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. *Insects* 4: 357–374.

- Palacios** Torres R, Ramírez Del-Ángel M, Uribe-Gonzalez E, Granados-Escamilla D, Romero Castañeda J, Valdes-Carrasco J. 2011. Avocado seed moth, *Stenoma catenifer* Walsingham (Lepidoptera: Elachistidae) in Queretaro, Mexico. *Acta Zoológica Mexicana* 27(2): 501-504.
- Pautot** S, Frisken BJ, Weitz DA. 2003. Production of unilamellar vesicles using an inverted emulsion. 19: 2870- 2879.
- Pelizza** SA, Eliades LA, Saparrat MCN, Cabello MN, Scorsetti AC, Lange CE. 2012. Screening of Argentine native fungal strains for biocontrol of the grasshopper *Tropidacris collaris*: relationship between fungal pathogenicity and chitinolytic enzyme activity. *World Journal of Microbiology Biotechnology* 28: 1359-1366.
- Peña** JE, Crane JH, Capinera JL, Duncan RE, Kendra PE, Ploetz RC, Cave RD. 2011. Chemical control of the redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus*, and other Scolytinae (Coleoptera: Curculionidae). *Florida Entomologist* 94(4): 882-896.
- Peña** J, Carrillo D, Duncan R, Capinera J, Brar G, Mclean S, Kendra P. 2012. Susceptibility of *Persea* spp. and other Lauracea to attack by redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Florida Entomologist* 95(3): 783-787.
- Peña** JE, Carillo D. 2012. Control Biológico de plagas de aguacate en Florida, *USA*. Uruapan, Michoacán.
- Pérez-González** VH, Guzmán-Franco AW, Alatorre-Rosas R, Hernández-López J, Hernández-López A, Carrilo-Benítez MG, Baverstock J. 2014. Specific diversity of the entomopathogenic fungi *Beauveria* and *Metarhizium* in Mexican agricultural soils. *Journal of Invertebrate Pathology* 119: 54-61.
- Pletamul** W, Prasertsan P. 2012. Evaluation of strains of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Spodoptera litura* on the basis of their virulence, germination rate, conidia production, radial growth and enzyme activity. *Mycobiology* 40: 111-116.
- Ploetz** RC, Konkol JL, Narvaez T, Duncan RE, Saucedo RJ, Campbell A, Mantilla J, Carrillo D, Kendre PE. 2017. Presence and prevalence of *Raffaelea lauricola*, cause of laurel wilt, in different species of ambrosia beetle in Florida, USA. *Journal of Economical Entomology* 110(2): 347-354.

- Ploetz RC**, Pérez-Martínez JM, Smith JA, Hughes M, Dreaden TJ, Inch SA, Fu Y. 2012. Responses of avocado to laurel wilt, caused by *Raffaelea lauricola*. Plant Pathology 61(4): 801-808.
- Ravensberg WJ**. 2011. Selection of a microbial pest control agent, In: Ravensberg, W.J. (Ed), A Roadmap to the Successful Development and Commercialization of Microbial Pest Control Products for Control of Arthropods, Progress in Biological Control, vol 10. Springer, Dordrecht, pp. 23-57.
- Renner S**. 1999. Circumscription and phylogeny of Laurales: evidence from molecular and morphological data. American Journal of Botanic 86: 1301–1315.
- Rodríguez-Gómez D**, Loera O, Saucedo-Castañeda G, Viniegra-Gonzalez G. 2009 Substrate influence on physiology and virulence of *Beauveria bassiana* acting on larvae and adults of *Tenebrio molitor*. World Journal of Microbiology and Biotechnology 25: 513-518.
- Rodgers L**, Derksen A, Pernas T. 2014. Expansion and Impact of Laurel Wilt in the Florida Everglades. Florida Entomologist 97(3): 1247-1250.
- Safavi SA**, Shah FA, Pakdel AK, Reza G, Bandani AR, Butt TM. 2007. Effect of nutrition on growth and virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. FEMS Microbiology Letters 270: 116-123.
- Saucedo-Carabez JR**, Ploetz RC, Konkol JL, Carrillo D, Gazis R. (2018). Partnerships between ambrosia beetles and fungi: lineage-specific promiscuity among vectors of the laurel wilt pathogen, *Raffaelea lauricola*. Microbial ecology 76(4): 925-940.
- SENASICA**. 2016. Plan de acción para la vigilancia y aplicación de medidas de control contra complejos ambrosiales reglamentados en México: *Xyleborus glabratus*-*Raffaelea lauricola* y *Euwallacea* sp.- *Fusarium euwallaceae*. SAGARPA, SENASICA, Gobierno de México [Online]. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/180743/PLANDEACCIONAMBROSIALES_opt.pdf Accesado el 28 de octubre el 2019.
- SENASICA**. 2018. Complejo escarabajo ambrosial del laurel rojo. *Xyleborus glabratus*-*Raffaelea lauricola*. Ficha técnica No. 48. Gobierno de México [Online]. Disponible en:

<https://prod.senasica.gob.mx/SIRVEF/ContenidoPublico/Fichas%20tecnicas/Fic>
Accesado el 17 de enero de 2020.

- Shah F**, Wang C, But T. 2005. Nutrition influences growth and virulence of the insect-pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. FEMS Microbiology Letter 251: 259-266.
- SIAP**. 2019a. Avance de siembras y cosechas, resumen por estado. SADER, Gobierno de México [Online]. Accesado el 28 de octubre el 2019. Disponible en: http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenProducto.do
- SIAP**. 2019b. Producción de aguacates. SAGARPA, Gobierno de México [Online]. Disponible en: <http://siaprendes.siap.gob.mx/contenidos/2/02-aguacate/contexto-4.html#> Accesado el 28 de octubre el 2019.
- SIRVEF**. 2019. Escarabajo ambrosial del laurel rojo, *Xyleborus glabratus* Eichhoff, 1877 (Coleoptera: Curculionidae: Scolitinae). Aviso público y situación actual. SEDER, SENASICA, Gobierno de México [Online]. Disponible en: <https://prod.senasica.gob.mx/SIRVEF/ContenidoPublico/Avisos%20y%20alertas/Avisos%20publicos/Aviso%20público%20Escarabajo%20ambrosia%20del%20laurel%20rojo.pdf> Accesado el 28 de octubre el 2019.
- Su Kim J**, Skinner M, Hata T, Parker BL. 2010. Effects of culture media on hydrophobicity and thermotolerance of Bb and Ma conidia, with description of a novel surfactant based hydrophobicity assay. Journal of Invertebrate Pathology 105: 322–328.
- St. Leger RJ**, Goettel M, Roberts DW, Staples RC. 1991. Prepenetration events during the infection of host cuticle by *Metarhizium anisopliae*. Journal of Invertebrate Pathology 58: 168–179.
- Wang C**, Wang S. 2017. Insect pathogenic fungi: genomics, molecular interactions, and genetic improvements. Annual Reviews of Entomology 62: 73-90.
- Wang J**, Lovett B, St Leger RJ. 2019. The secretome and chemistry of *Metarhizium a* genus of entomopathogenic fungi. Fungal Ecology 38: 7-11.
- Wraight S**, Inglis DG, Goettel MS. 2007. Fungi. In: *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: application and evaluation of pathogens for control of*

insects and other invertebrate pests. Lacey LA and Kaya, H. K. (Eds.), Springer Science & Business Media, pp. 223-248.

Womack JG, Eccleston GM, Burge MN. 1996. A Vegetable oil-based invert emulsion for mycoherbicide delivery. *Biological Control* 6: 23-28.

Wood SL. 1982. The bark and ambrosia beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytinae). A taxonomic monograph. *Great Basin Naturalis Memoirs* 6: 799, 831, 834.

Zare M, Talaie-Hassanlou R, Fotouhifar KB. 2014. Relatedness of proteolytic potency and virulence in entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* isolates. *Journal of Crop Protection* 3(4): 425-434.

XI. RESUMEN BIBLIOGRÁFICO
M.C. Jesús Enrique Castrejón Antonio
Candidato para el Grado de
Doctor en Ciencias con Orientación en Microbiología

Tesis: Selección de aislamientos de *Beauveria bassiana* para el control biológico de *Xyleborus affinis* vector del hongo *Raffaelea lauricola*, plagas potencialmente riesgosas para el cultivo de aguacate, *Persea americana*, en México.

Campo de estudio: Ciencias de la Vida

Datos personales: Nacido en Colima, Colima el 15 de octubre de 1986, hijo de Adán Castrejón Cortés y Lucia Antonio Cárdenas.

Educación: egresado de la Universidad de Colima con el título de Químico Farmacéutico Biólogo en 2009, Premio Peña Colorada por haber concluido los estudios profesionales con el más alto nivel de calificación.

Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León con el título de Maestro en Ciencias con acentuación en Microbiología.

Experiencia profesional: Responsable del Laboratorio de Reproducción de Organismos Benéficos del Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato (CESAVEG) de 2012 a 2014. Asesor técnico en manejo integrado de plagas del Consejo Estatal de Productores de Papaya (COEPAPAYA) de 2014 a 2015. Investigador independiente para la empresa *Acadian Seaplants Limited* de enero a julio de 2016.

Publicaciones:

1. Castrejón-Antonio J.E., Montesinos-Matías R., Acevedo-Reyes N., Tamez-Guerra P., Ayala-Zermeño M.A., Berlanga-Padilla A.M. & Arredondo-Bernal H.C. 2017. Especies de *Xyleborus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolitinae) asociados a huertos de aguacate en Colima, México. *Acta Zoológica Mexicana*. 31(1): 146-150.
2. Castrejón-Antonio, J.E., G. Núñez-Mejía, M.M. Iracheta-Cárdenas, F. Tamayo-Mejía, J. A. Ocampo-Hernández, R. Gomez-Flores, P. Tamez-Guerra. 2017. *Beauveria bassiana* blastospores produced in a selective culture medium reduce the survival time of *Epilachna varivestis* Mulsant larvae. *Southwestern entomologist*. 42 (1): 203-220.
3. Castrejón-Antonio, J. E., R. Montesinos-Matías, P. Tamez-Guerra, L. T. Fuentes Guardiola, B. Laureano-Ahuelican, and H. C. Arredondo-Bernal. 2018. Infestation of *Xyleborus volvulus* Fabricius (Curculionidae: Scolitinae) in *Mangifera indica* L. (Mangifera: Anacardiaceae) in Manzanillo, Colima. *Florida Entomologist*. 101(4): 676-680.

Patente otorgada: Medio selectivo para inducir la producción de enzimas degradadoras de la cutícula de insectos por un hongo entomopatógeno. 2017. Registro de Patente-MX/2016/090278. Autores- Patricia Tamez Guerra y Jesús Enrique Castrejón Antonio.

ANEXO 1. CEPAS EMPLEADAS EN EL PROYECTO*

Clave	Género/ Especie	Año de colecta	Huésped de donde se aisló originalmente el hongo	Lugar Geográfica de donde se colectó el hongo
CNRCB 21	<i>Beauveria bassiana</i>	1992	<i>Hypothenemus hampei</i>	Oaxaca, México.
CNRCB 22	<i>Beauveria bassiana</i>	1992	<i>Hypothenemus hampei</i>	Oaxaca, México.
CNRCB 25	<i>Beauveria</i> sp.	2012	<i>Hypothenemus hampei</i>	Cofradía de Suchitlán, Colima, México
CNRCB 26	<i>Beauveria bassiana</i>	1996	<i>Hypothenemus hampei</i>	Oaxaca, México.
CNRCB 27	<i>Beauveria bassiana</i>	1996	<i>Hypothenemus hampei</i>	Oaxaca, México.
CNRCB 30	<i>Beauveria bassiana</i>	1996	<i>Hypothenemus hampei</i>	Veracruz, México
CNRCB 37	<i>Beauveria</i> sp	2012	<i>Hypothenemus hampei</i>	El Cuíl, ejido Canoas, Minatitlán, Colima, México
CNRCB 38	<i>Beauveria</i> sp.	2012	<i>Hypothenemus hampei</i>	La Zanja, ejido Canoas, Minatitlán, Colima, México
CNRCB 44	<i>Beauveria</i> sp.	2012	<i>Hypothenemus hampei</i>	La Calera, ejido Canoas, Minatitlán, Colima, México
CNRCB 105	<i>Beauveria bassiana</i>	2013	Coleóptero de pino	México
CNRCB 117				
CNRCB 171	<i>Beauveria</i> sp.	2012	<i>Hypothenemus hampei</i>	Agua Fria, Minatitlán, Colima, México
CNRCB 173				
CNRCB 174	<i>Beauveria</i> sp.	2012	<i>Hypothenemus hampei</i>	Cofradía de Suchitlán, Colima, México
CNRCB 431	<i>Beauveria bassiana</i>		<i>Hypothenemus hampei</i>	Comala, Colima, México
CNRCB 483	<i>Beauveria bassiana</i>	2015	<i>Galleria mellonella</i>	Ziracuaretiro, Michoacan, México
CNRCB 484	<i>Beauveria bassiana</i>	2015	<i>Galleria mellonella</i>	Ziracuaretiro, Michoacan, México
CNRCB 485	<i>Beauveria bassiana</i>	2015	<i>Galleria mellonella</i>	Ziracuaretiro, Michoacan, México
CNRCB 486	<i>Beauveria bassiana</i>	2015	<i>Galleria mellonella</i>	Ziracuaretiro, Michoacan, México

ANEXO 2. PREPARACIÓN DE MEDIOS Y REACTIVOS

2.1 MEDIO SDYA/4

Ingredientes	Cantidad
Agua Destilada	100 mL
Dextrosa	1 g
Polipectona	0.25 g
Extracto de levadura	0.25 g
Agar	1.5 g

Forma de preparación

Se incorporan los ingredientes secos en el agua destilada y se calienta la mezcla hasta el primer hervor. El medio se esteriliza en un ciclo de 120 °C por 15 min.

2.2 MEDIO SDYA

Ingredientes	Cantidad
Agua Destilada	100 mL
Dextrosa	4 g
Polipeptona	1 g
Extracto de levadura	1.5 g
Agar	1.5 g

Forma de preparación

Se incorporan los ingredientes secos en el agua destilada y se calienta la mezcla hasta el primer hervor. El medio se esteriliza en un ciclo de 120 °C por 15 min.

2.3 AZUL DE LACTOFENOL

Ingredientes	Cantidad
Fenol (Cristales)	20 g
Ácido láctico	20 g
Glicerol	40 g
Agua destilada	20 mL

2.4 MEDIO C:N (10:1)

Ingredientes	Cantidad
Agua Destilada	100 mL
Dextrosa	0.6 g
Polipeptona	1 g
Agar	2 g

Forma de preparación

Se incorporan los ingredientes secos en el agua destilada y se calienta la mezcla hasta el primer hervor. El medio se esteriliza en un ciclo de 120 °C por 15 min.

ANEXO 3. MEDIO PARA LA CRÍA DE ESCARABAJOS DEL GÉNERO *Xyleborus* (ADAPTADO DEL MEDIO REPORTADO POR COOPERBAND ET AL. 2016)

Ingrediente	Cantidad
Agua Destilada	100 mL
Tetraciclina	0.07 g
Sales de Wesson	0.2 g
Levadura de cerveza	1 g
Fécula de maíz	1 g
Peptona de caseína	1 g
Sacarosa	2 g
Aceite de gérmen de trigo	0.5 mL
Etanol al 96%	1 mL
Agar	4 g
Aserrín de árbol de aguacate*	15 g

*El aserrín debe estar cernido y con una humedad de entre el 8 y 10%.

Forma de preparación

En un vaso de precipitado se agrega el agua destilada y se van incorporando los ingredientes en el orden indicado en la lista, sin agregar el aserrín. Una vez incorporado el agar, se procede a calentar la mezcla hasta que espese. Posteriormente se coloca en un recipiente de plástico el aserrín necesario y se le agrega el medio caliente, mezclándolo perfectamente con el aserrín. Se recomienda que esto se haga con las manos. Una vez que se obtenga una pasta de aserrín homogénea, se vacía a tubos de plástico de fondo cónico de 50 mL compactándola adecuadamente hasta una altura de 25 a 30 mL. Los tubos se esterilizan en un ciclo de 120 °C durante 15 min. Posteriormente a la esterilización y sólo en caso de que el medio se haya expandido, se empuja nuevamente para compactarlo. Esto se debe de realizar aún caliente el medio y empleando un instrumento desinfectado con hipoclorito de sodio al 1%. Los tubos se dejan enfriar en la campana de flujo laminar y hasta entonces se limpian los restos de medio de cultivo de las paredes mediante gasa estéril. Si los tubos no se emplean en el momento, se tapan y se conservan en refrigeración hasta su uso.

ANEXO 4. FORMULACIÓN DE *Beauveria bassiana* EN UNA EMULSIÓN INVERTIDA.

1. Preparar la fase oleosa en un frasco con rosca de 250 mL. Esterilizar la mezcla a 120 °C por 15 min. Almacenar entre 24 y 48 h, para posteriormente realizar una segunda esterilización. Cuando la mezcla alcance la temperatura ambiente agregar un agitador magnético estéril. Almacenar hasta su uso.
2. Preparar suspensión de conidios (no más de 20 mL) utilizando fase acuosa.
3. Colocar en una balanza analítica 2 vasos de precipitado de 100 mL. Tarar la balanza. Agregar la suspensión de conidios en uno de los vasos. Llevar al peso necesario de la fase acuosa, agregando fase acuosa sin conidios en el segundo vaso de precipitado.
4. Calentar la fase oleosa y agitar.
5. Agregar la fase acuosa sin conidios hasta obtener una emulsión blanca homogénea. Seguir agitando y dejar enfriar la emulsión. Seguir agitando.
6. Una vez fría la emulsión agregar la fase acuosa con conidios. Continuar con la agitación durante 10 min.

ANEXO 5. CONTEO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE *Beauveria bassiana* EN EL FORMULADO

1. Pesar (*sic*) un mL de la emulsión en un vaso de precipitados de 50 mL -con agitador magnético estéril y agregar 9 ml de mezcla acuosa. Agitar. Esta dilución es 1:10.
2. Tomar 10 μ L de la dilución 1:10, ponerlo en un tubo de ensayo de 1.5 mL y agregarle 990 μ L de mezcla acuosa. Esta dilución es 1:1000.
3. Repetir el punto 2 con la dilución 1:1000. Esta dilución es 1:100,000.
4. Tomar 100 μ L de la dilución 1:100,000, ponerlo en un tubo de ensayo de 1.5 mL y agregarle 900 μ L de mezcla acuosa. Esta dilución es 1:1;000,000.
5. Tomar 50 μ L de la última dilución y colocarlos en una caja Petri de 90 \times 15 mm. Agregar 20 mL de agar PDA o Sabouraud tibio. Agitar gentilmente: 10 veces de arriba abajo, 10 veces de izquierda a derecha, 10 veces en forma circular en el sentido de las manecillas del reloj y diez más en sentido contrario. Dejar en solidificar el agar e incubar a 25 °C durante 48 h.
6. Contar las colonias desarrolladas y determinar la concentración por unidad de volumen de formulado.

**ANEXO 6. TABLA COMPARATIVA DE ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE
ESCARABAJOS AMBROSIALES Y HONGOS ENTOMOPATÓGENOS**

Escarabajo	Hongo, cepa	Mortalidad (%)	ST₅₀/TL₅₀	Método de aplicación/concentración	Referencia
<i>Xylosandrus germanus</i>	<i>Metarrizium brunneum</i> F52	6.7 ± 6.7	4.9	Aspersión 600 conidios mL ⁻¹	Castrillo <i>et al.</i> 2011
	<i>Beauveria bassina</i> Naturalist	60 ± 6.7	4.6		
	<i>B. bassiana</i> GHA	61.7 ± 7.9	7.3		
<i>Xylosandrus crassiusculus</i>	<i>M. brunneum</i> F52	78.9 ± 7.8 (a la dosis más alta)	No determinados	Aspersión directa del insecto: 600, 300, 150 y 75 conidios mm ⁻²	Castrillo <i>et al.</i> 2013
	<i>B. bassina</i> Naturalist	95.6 ± 1.1 (a la dosis más alta)			
	<i>B. bassiana</i> GHA	76.7 ± 7 (a la dosis más alta)			
<i>Xyleborus glabratus</i>	<i>I. fumosorosea</i> Ifr	66.7 ± 8.2	4 ± 0.62	Inmersión 2.4 × 10 ⁶ blastosporas o conidios mL ⁻¹	Carrillo <i>et al.</i> 2015
	<i>I. fumosorosea</i> PFR	77.3 ± 6.4	5 ± 0.79		
	<i>B. bassiana</i> GHA	54.7 ± 6.3	3 ± 0.29		
	<i>I. fumosorosea</i> Ifr	72.0 ± 7.5	4 ± 0.44	Troncos inmersos en 2.34–2.43 × 10 ⁶ conidios mL ⁻¹	
	<i>I. fumosorosea</i> PFR	82.7 ± 5.1	4 ± 0.39	Troncos inmersos en 2.38–2.48 × 10 ⁶ conidios mL ⁻¹	
	<i>B. bassiana</i> GHA	70.7 ± 6.7	3 ± 0.13	Troncos inmersos en 2.37–2.47 × 10 ⁶ conidios mL ⁻¹	

**ANEXO 6. TABLA COMPARATIVA DE ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE
ESCARABAJOS AMBROSIALES Y HONGOS ENTOMOPATÓGENOS.
CONTINUACIÓN**

Escarabajo	Hongo, cepa	Mortalidad (%)	ST ₅₀ /TL ₅₀	Método de aplicación/concentración	Referencia
	<i>Metarrizium brunneum</i> F52		5.3		
<i>Xylosandrus crassiusculus</i>	<i>I. fumosorosea</i> PFR-97		4.9		
	<i>B. bassiana</i> GHA		4.5		
	<i>Metarrizium brunneum</i> F52		3.6	Indirecta mediante papel filtro	
<i>Xyleborus volvulus</i>	<i>I. fumosorosea</i> PFR-97	No determinado	3.9	2.4 × 10 ⁶ conidios mL ⁻¹	Avery <i>et al.</i> 2018
	<i>B. bassiana</i> GHA		3.7		
	<i>Metarrizium brunneum</i> F52		2.9		
<i>Xylevorus bispinatus</i>	<i>I. fumosorosea</i> PFR-97		4.3		
	<i>B. bassiana</i> GHA		4.2		
	<i>B. bassiana</i> CNRC 44	40 ± 13.3	TL ₄₀ = 7.97± 2.5	Asperción	
<i>Xyleborus affinis</i>	<i>B. bassiana</i> CNRC 171	48 ± 9	TL ₄₀ = 9.62± 2.8	1 × 10 ⁸	
	<i>B. bassiana</i> CNRC 431	48 ± 9.7	TL ₄₀ = 6.49 ± 2.1	conidios mL ⁻¹	
	<i>B. bassiana</i> CNRC 485	58.7± 13.7	TL ₄₀ = 5.32 ± 0.2		

ANEXO 6. TABLA COMPARATIVA DE ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE ESCARABAJOS AMBROSIALES Y HONGOS ENTOMOPATÓGENOS. CONTINUACIÓN.

<i>Escarabajo</i>	<i>Hongo, cepa</i>	Mortalidad (%)	ST₅₀/TL₅₀	Método de aplicación/concentración	Referencia
<i>Xyleborus affinis</i>	<i>B. bassiana</i> CNRC 44	33.4 ± 1.7	No determinado	Inmersión 1 × 10 ⁸ conidios mL ⁻¹	
	<i>B. bassiana</i> CNRC 171	16.7 ± 3.1			
	<i>B. bassiana</i> CNRC 431	22.3 ± 3.2			
	<i>B. bassiana</i> CNRC 485	39.9 ± 5.7			

ANEXO 7. EMULSIONES PREPARADAS. LOS VALORES EN CADA CELDAN REPRESENTAN EL PORCENTAJE EN PESO DE CADA UNO DE LOS INGREDIENTES

Ensayo	Petrolato	Cera de abeja Alba	Cera microcristalina	Hectorita de esteralconio	Gelcol	Fase Oleosa					Fase Acuosa				Evaluaciones			
						Acetite de Coco	Acetite de Soya	Spam 80	Spam 83	Spam 85	Acetite Mineral	Tween 80	Glicerina	Agua	Tristearidina	Emulsion invertida	Conductividad ad	Estabilidad
E1	-----	-----	-----	-----	-----	19.5	28.5	3.00	-----	-----	-----	0.00	4.00	45	-----	Negativa	Positiva	1.46
E2	-----	-----	-----	-----	-----	19.5	28.5	2.75	-----	-----	-----	0.25	4.00	45	-----	Negativa	Positiva	0.31
E3	-----	-----	-----	-----	-----	19.5	28.5	2.50	-----	-----	-----	0.50	4.00	45	-----	Negativa	Positiva	0.72
E4	-----	-----	-----	-----	-----	19.5	28.5	2.25	-----	-----	-----	0.75	4.00	45	-----	Negativa	Positiva	1.33
E5	-----	-----	-----	-----	-----	19.5	28.5	2.00	-----	-----	-----	1.00	4.00	45	-----	Negativa	Positiva	1.87
E6	-----	-----	-----	-----	-----	18.4	27.6	5	-----	-----	-----	0	4	45	-----	Negativa	Positiva	2.3
E7	-----	-----	-----	-----	-----	18.4	27.6	4.8	-----	-----	-----	0.2	4	45	-----	Negativa	Positiva	2.2
E8	-----	-----	-----	-----	-----	18.4	27.6	4.6	-----	-----	-----	0.4	4	45	-----	Negativa	Positiva	2.3
E9	-----	-----	-----	-----	-----	18.4	27.6	4.4	-----	-----	-----	0.6	4	45	-----	Negativa	Positiva	2.0
E10	-----	-----	-----	-----	-----	18.4	27.6	4.2	-----	-----	-----	0.8	4	45	-----	Negativa	Positiva	1.9
E11	-----	-----	-----	-----	-----	19.5	28.5	-----	3.00	-----	-----	0.00	4.00	45.00	-----	Negativa	Positiva	1.6
E12	-----	-----	-----	-----	-----	19.5	28.5	-----	2.75	-----	-----	0.25	4.00	45.00	-----	Negativa	Positiva	1.6
E13	-----	-----	-----	-----	-----	19.5	28.5	-----	2.50	-----	-----	0.50	4.00	45.00	-----	Negativa	Positiva	1.7
E14	-----	-----	-----	-----	-----	19.5	28.5	-----	2.25	-----	-----	0.75	4.00	45.00	-----	Negativa	Positiva	0.95
E15	-----	-----	-----	-----	-----	19.5	28.5	-----	2.00	-----	-----	1.00	4.00	45.00	-----	Negativa	Positiva	1.5
E16	1.0	0.5	0.3	0.0	-----	25.7	28.5	-----	-----	3.0	1.0	0.1	4.0	36.0	-----	Positiva	Negativa	0.29
E17	1.0	0.5	0.3	0.1	-----	15.8	28.5	-----	-----	3.0	1.0	0.1	4.0	45.9	-----	Positiva	Negativa	1.36
E18	1.0	0.5	0.3	-----	-----	15.9	27.8	-----	-----	3.0	1.0	0.1	4.0	46.4	-----	Positiva	Negativa	0.5
E19	1.0	0.5	0.3	-----	-----	15.9	27.8	-----	-----	3.0	1.0	0.1	4.0	46.4	-----	Positiva	Negativa	0.06
E20	0.5	0.5	0.3	0.1	-----	15.9	28.8	-----	3.0	-----	0.5	0.05	4.0	46.4	-----	Positiva	Negativa	0.04
E21	0.5	0.3	0.1	-----	-----	16.0	28.9	-----	3.0	-----	0.5	0.05	4.1	46.6	-----	Positiva	Negativa	0.54
E22	0.5	0.7	0.5	-----	-----	15.7	28.4	-----	3.0	-----	0.5	0.05	4.7	45.8	-----	Positiva	Negativa	1.5
E23	0.5	0.5	0.3	-----	0.3	55.4	-----	-----	-----	3.0	-----	0.1	4.0	35.9	-----	Positiva	Negativa	1.8
E24	0.5	0.5	0.3	-----	0.3	55.4	-----	-----	-----	3.0	-----	0.1	4.0	35.9	-----	Positiva	Negativa	1.7
E25	0.5	0.5	0.3	-----	0.3	45.4	10.0	-----	3.0	-----	-----	0.1	4.0	35.9	-----	Positiva	Negativa	0.5
E26	0.5	0.5	0.3	-----	0.3	40.4	15.0	-----	3.0	-----	-----	0.1	4.0	35.9	-----	Positiva	Negativa	0.4
E27	0.5	0.5	0.3	-----	0.3	35.4	20.0	-----	3.0	-----	-----	0.1	4.0	35.9	-----	Positiva	Negativa	0.6
E28	0.5	0.5	0.3	-----	0.3	54.9	0.5	-----	3.0	-----	-----	0.1	4.0	35.9	-----	Positiva	Negativa	0.3
E29	0.5	0.5	0.3	-----	0.3	54.9	-----	-----	3.0	-----	0.5	0.1	4.0	35.9	-----	Positiva	Negativa	0.4
E30	0.25	0.25	0.13	-----	-----	16.40	29.27	-----	3.03	-----	0.25	0.05	4.04	46.33	-----	Positiva	Negativa	1.3

ANEXO 7. EMULSIONES PREPARADAS. LOS VALORES EN CADA CELDAN REPRESENTAN EL PORCENTAJE EN PESO DE CADA UNO DE LOS INGREDIENTES. CONTINUACIÓN.

Ensayo	Fase Oleosa										Fase Acuosa				Evaluaciones			
	Petrolato	Cera de abeja Alba	Cera microcristalina	Hectorita de esteralconio	Gelcol	Acetate de Coco	Acetate de Soya	Spam 80	Spam 83	Spam 85	Acetate Mineral	Tween 80	Glicerina	Agua	Trietanolamina	Emulsión invertida	Conductividad ad	Estabilidad
E31	0.13	0.13	0.06	-----	-----	23.78	22.53	-----	3.00	-----	0.13	0.05	4.00	45.95	-----	Positiva	Negativa	1.6
E32	-----	0.75	0.50	-----	-----	16.13	28.89	-----	3.02	-----	0.50	0.05	4.02	46.13	-----	Positiva	Negativa	0.08
E33	0.50	-----	0.50	-----	-----	16.17	28.97	-----	3.02	-----	0.50	0.05	4.03	46.25	-----	Positiva	Negativa	1.3
E34	0.50	0.75	-----	-----	-----	16.13	28.89	-----	3.02	-----	0.50	0.05	4.02	46.13	-----	Positiva	Negativa	0.06
E35	-----	0.45	0.3	-----	-----	12.84	23	-----	2.4	-----	0.4	0.04	3.2	36.72	-----	Positiva	Negativa	0.3
E36	-----	0.3	0.2	-----	-----	12.84	23	-----	2.4	-----	0.4	0.04	3.2	36.72	-----	Positiva	Negativa	0.2
E37	0.3	0.45	-----	-----	-----	12.84	23	-----	2.4	-----	0.4	0.04	3.2	36.72	-----	Positiva	Negativa	2.1
E38	0.2	0.3	-----	-----	-----	12.84	23	-----	2.4	-----	0.4	0.04	3.2	36.72	-----	Positiva	Negativa	2.3
E39	0.50	0.75	0.50	-----	-----	15.72	28.44	-----	2.99	-----	0.50	0.05	4.74	45.71	0.10	Positiva	Negativa	1.5
E40	-----	0.75	0.50	-----	-----	15.72	28.44	-----	2.99	-----	0.50	0.05	4.74	46.21	0.10	Positiva	Negativa	1.3
E41	-----	0.56	0.38	-----	-----	16.05	28.75	-----	2.99	-----	0.50	0.05	4.74	45.88	0.10	Positiva	Negativa	1.8
E42	-----	0.38	0.25	-----	-----	16.05	28.75	-----	3.00	-----	0.50	0.05	4.74	46.19	0.10	Positiva	Negativa	1.3
E43	-----	0.8	0.5	-----	-----	16.1	28.9	-----	2.4	-----	0.5	0.1	4.0	46.8	-----	Positiva	Negativa	0.5
E44	-----	0.8	0.5	-----	-----	16.1	28.9	-----	1.8	-----	0.5	0.1	4.0	47.4	-----	Positiva	Negativa	0.3
E45	-----	0.8	0.5	-----	-----	16.1	28.9	-----	1.5	-----	0.5	0.1	4.0	47.6	-----	Positiva	Negativa	0.8
E46	-----	0.4	0.5	-----	-----	16.3	29.3	-----	1.5	-----	0.5	0.1	4.1	47.4	-----	Positiva	Negativa	1.6
E47	-----	0.8	0.3	-----	-----	16.2	29.0	-----	1.5	-----	0.5	0.1	4.0	47.6	-----	Positiva	Negativa	1.3
E48	-----	0.8	0.5	-----	-----	16.2	29.0	-----	1.5	-----	0.3	0.1	4.0	47.7	-----	Positiva	Negativa	1.2
E49	-----	0.8	0.5	-----	-----	16.1	28.9	-----	2.4	-----	0.5	0.1	4.0	46.8	-----	Positiva	Negativa	1.4
E50	-----	0.8	0.5	-----	-----	16.1	28.9	-----	1.8	-----	0.5	0.1	4.0	47.4	-----	Positiva	Negativa	1.2
E51	-----	0.8	0.5	-----	-----	16.1	28.9	-----	1.5	-----	0.5	0.1	4.0	47.6	-----	Positiva	Negativa	1
E52	-----	0.5	0.3	-----	-----	16.9	28.8	-----	-----	1.3	0.5	0.1	4.0	47.7	-----	Positiva	Negativa	2.4
E53	-----	0.5	0.3	-----	-----	16.3	29.2	-----	-----	1.0	0.5	0.1	4.1	48.2	-----	Positiva	Negativa	2.5
E54	-----	-----	-----	-----	-----	22.6	26.7	-----	-----	2.8	-----	0.05	3.7	44.1	-----	Positiva	Negativa	2.1
E55	-----	0.8	0.5	-----	-----	16.1	28.8	-----	-----	1.5	0.5	0.05	4.0	47.9	-----	Positiva	Negativa	2.0
E56	-----	0.5	0.2	-----	-----	16.8	28.7	-----	-----	1.5	0.5	0.05	4.0	47.7	-----	Positiva	Negativa	0.05
E57	-----	0.75	0.50	-----	-----	16.13	28.90	-----	-----	1.51	0.50	0.05	4.02	47.63	-----	Positiva	Negativa	0.5
E58	-----	0.76	0.51	-----	-----	16.32	26.69	-----	-----	1.53	0.51	0.05	4.07	49.57	-----	Positiva	Negativa	0.3
E59	-----	0.77	0.51	-----	-----	16.51	27.00	-----	-----	1.80	0.51	0.05	4.11	48.73	-----	Positiva	Negativa	0.2
E60	-----	0.76	0.51	-----	-----	16.32	25.42	-----	-----	1.53	0.51	0.05	4.07	50.84	-----	Positiva	Negativa	0.03
E61	-----	0.77	0.51	-----	-----	16.53	24.46	-----	-----	1.54	0.51	0.05	4.12	51.49	-----	Positiva	Negativa	0.5
E62	-----	0.76	0.51	-----	-----	16.32	24.15	-----	-----	1.53	0.51	0.05	4.07	52.11	-----	Positiva	Negativa	0.5
E63	-----	0.72	0.59	-----	-----	16.74	23.47	-----	-----	1.56	0.52	0.05	4.17	52.16	-----	Positiva	Negativa	0.6

TÍTULO DE PATENTE No. 348949

Titular(es): UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Domicilio: Av. Pedro de Alba S/N, Torre de Rectoría, Ciudad Universitaria, 66451, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, MÉXICO

Denominación: MEDIO SELECTIVO PARA INDUCIR LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS DEGRADADORAS DE LA CUTÍCULA DE INSECTOS POR UN HONGO ENTOMOPATÓGENO.

Clasificación: CIP: C12N1/38; C12N1/00
CPC: C12N1/38; C12N1/00

Inventor(es): PATRICIA TAMEZ GUERRA; JESÚS ENRIQUE CASTREJÓN ANTONIO

SOLICITUD

Número:

Fecha de Presentación:

Hora:

MX/a/2013/007794

3 de Julio de 2013

14:25

Vigencia: Veinte años

Fecha de Vencimiento: 3 de julio de 2033

Fecha de Expedición: 28 de junio de 2017

La patente de referencia se otorga con fundamento en los artículos 1º, 2º fracción V, 6º fracción III, y 59 de la Ley de la Propiedad Industrial.

De conformidad con el artículo 23 de la Ley de la Propiedad Industrial, la presente patente tiene una vigencia de veinte años improrrogables, contada a partir de la fecha de presentación de la solicitud y estará sujeta al pago de la tarifa para mantener vigentes los derechos.

Quien suscribe el presente título lo hace con fundamento en lo dispuesto por los artículos 6º fracciones III y 7º bis 2 de la Ley de la Propiedad Industrial (Diario Oficial de la Federación (D.O.F.) 27/06/1991, reformada el 02/08/1994, 25/10/1996, 26/12/1997, 17/05/1999, 26/01/2004, 16/06/2005, 25/01/2006, 06/05/2009, 06/01/2010, 18/06/2010, 28/06/2010, 27/01/2012 y 09/04/2012); artículos 1º, 3º fracción V inciso a), 4º y 12º fracciones I y III del Reglamento del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (D.O.F. 14/12/1999, reformado el 01/07/2002, 15/07/2004, 28/07/2004 y 7/09/2007); artículos 1º, 3º, 4º, 5º fracción V inciso a), 16 fracciones I y III y 30 del Estatuto Orgánico del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (D.O.F. 27/12/1999, reformado el 10/10/2002, 29/07/2004, 04/08/2004 y 13/09/2007); 1º, 3º y 5º inciso a) del Acuerdo que delega facultades en los Directores Generales Adjuntos, Coordinador, Directores Divisionales, Titulares de las Oficinas Regionales, Subdirectores Divisionales, Coordinadores Departamentales y otros subalternos del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. (D.O.F. 15/12/1999, reformado el 04/02/2000, 29/07/2004, 04/08/2004 y 13/09/2007).

El presente oficio se signa con firma electrónica avanzada (FIEL), con fundamento en los artículos 7 BIS 2 de la Ley de la Propiedad Industrial; 3o de su Reglamento, y 1 fracción III, 2 fracción V, 26 BIS y 26 TER del Acuerdo por el que se establecen los lineamientos para el uso del Portal de Pagos y Servicios Electrónicos (PASE) del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial, en los trámites que se indican.

LA DIRECTORA DIVISIONAL DE PATENTES NAHANNY CANAL REYES



Cadena Original:
NAHANNY MARISOL CANAL REYES|00001000000403252793|Servicio de Administración
Tributaria|1695|MX/2017/53448|MX/a/2013/007794|Título de patente normal|1220|RRGO|Pág(s)
1|eRX4t2MUHSuVaEZFoAWcbfKc2Zl=

Sello Digital:
yQdEqpvNSVvKqo+W/qZKDqKZTZOgmM2hgdUFoCu5qY4afwY3OQuJrdFXAuBEXd6ZP/TlvdUjp+eU5M5IIWwUQc6BSyK
mEihB/1eHUTVXcTlrsnNKUJK5KjRYw2njKKE2BH/sCNfHxU3KtNlJxySnO0bqTg+F9zfP7mqvCHM+XjKpl8q93I3KV
lIZsH6QxUbLcQKRz5ZYEZKl1dg7opmM43fRv8Zgch9o38hYYEuLf1tL4X3uDZnzKyreacAGZL8PqteO05EEFxlMW
ADdkE8vJ8jpzkTd9RevsFphJf3tAX6YCP5EZDw6dsHHqXs2srLoge0JnJnRfqBdFEFGERbQ==



***PORTAL DEL
CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA***

REPORTE CVU COMPLETO

CURP: CAAJ861015HCMSNS06

Nombre: JESUS ENRIQUE

Primer apellido: CASTREJON

Segundo apellido: ANTONIO

Fecha de nacimiento: 15/oct/1986

Sexo: Masculino

País de nacimiento: México

Entidad federativa: COLIMA

CVU: 377416

Nacionalidad: Mexicana

Contacto principal: jcastrejon3@ucol.mx

Identificadores de autor

ORC ID: 0000-0002-6561-5351

1. Datos básicos[Datos generales](#)[Domicilio de residencia](#)**2. Formación académica**[Grados Académicos](#)**3. Trayectoria profesional**[Experiencia laboral](#)[Estancias de investigación](#)**4. Producción científica, tecnológica y de innovación****4.1 Científica**[Publicación de artículos](#)**4.2 Tecnológica y de innovación**[Patentes](#)**5. Formación de capital humano****5.1 Docencia**[Programas en PNPC](#)[Programas no PNPC](#)**5.2 Tesis dirigidas**[Programas en PNPC](#)[Programas no PNPC](#)**5.3 Diplomados**[Diplomados](#)**6. Comunicación pública de la ciencia, tecnológica y de innovación****6.1 Difusión**[Publicación de artículos](#)**6.3 Divulgación**[Divulgación](#)[Participación en congresos](#)**7. Vinculación****8. Evaluaciones****9. Premios y distinciones**[Distinciones no CONACYT](#)**10. Lenguas e idiomas**[Idiomas](#)

CONACYT

Datos generales

CURP: CAAJ861015HCMSNS06	Fecha de nacimiento: 15/oct/1986	RFC:
Nombre: JESUS ENRIQUE	Primer apellido: CASTREJON	Segundo apellido: ANTONIO
Sexo: Masculino	Estado conyugal:	País de nacimiento: México
Entidad federativa: COLIMA	CVU: 377416	
Contacto principal: jcastrejon3@ucol.mx	Nacionalidad: Mexicana	

Identificadores de autor

ORC ID: 0000-0002-6561-5351
Researcher ID Thomson:
arXiv Author ID:
PubMed Author ID:
Open ID:

Medios de contacto

Medio de contacto	Categoría de contacto	Correo / Teléfono	Principal
Correo electrónico	Oficial	jcastrejon3@ucol.mx	SI

Grados académicos

Título: QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO	
Nivel de escolaridad: Licenciatura	Estatus: Grado obtenido
Cédula profesional: 6152331	Opciones de titulación: Tesis
Título de tesis: EVALUACION DEL GRADO DE ATRACCION DEL 1-OCTEN-3-OL, L-ACIDO LACTICO, ACIDO PALMITICO Y ACIDO LAURICO SOBRE EL MOSQUITO	
Fecha de obtención: 04/mar/2009	
País de obtención de grado: México	

Grados académicos

Título: MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN MICROBIOLOGÍA	
Nivel de escolaridad: Maestría	Estatus: Grado obtenido
Cédula profesional: 7939486	Opciones de titulación: Tesis
Título de tesis: Potenciación de la producción de enzimas degradadoras de cutícula a partir de dos aislamientos monosporicos de Beauveria bassiana (BALS.)	
Fecha de obtención: 02/jul/2012	
Institución de obtención de grado: Universidad Autonoma de Nuevo Leon (UANL)	
País de obtención de grado: México	

Áreas de conocimiento

Área: Biología y química	Campo: Ciencias de la vida
Disciplina: Microbiología	Subdisciplina: Otras

Estancia Investigación

Nombre de estancia:	VERANO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA		
Tipo de estancia:	Académica		
Institución:	Instituto Nacional de Pediatría		
Fecha Inicio:	23/jun/2008	Fecha Fin:	22/ago/2008

CONACYT

Áreas de conocimiento

Área:	Biología y química	Campo:	Ciencias de la vida
Disciplina:	Microbiología	Subdisciplina:	Microbiología clínica

Estancia Investigación

Nombre de estancia:	VERANO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA		
Tipo de estancia:	Académica		
Institución:	Instituto de Ciencia y Tecnología		
Fecha Inicio:	02/jul/2007	Fecha Fin:	17/ago/2007

Áreas de conocimiento

Área:	Biología y química	Campo:	Ciencias de la vida
Disciplina:	Microbiología	Subdisciplina:	Microbiología clínica

Estancia Investigación

Nombre de estancia:	VERANO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA		
Tipo de estancia:	Académica		
Institución:	Universidad de Colima		
Fecha Inicio:	26/jun/2006	Fecha Fin:	14/ago/2006

Áreas de conocimiento

Área:	Biología y química	Campo:	Ciencias de la vida
Disciplina:	Microbiología	Subdisciplina:	Microbiología clínica

Publicación de artículos

ISSN impreso:	24488445	ISSN electrónico:	00651737
Nombre:	Acta Zoológica Mexicana (Nueva serie)		
País:	México		
Título del artículo:	Especies de Xyleborus (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) asociados a huertos de aguacate en Colima, México.		
Número de la revista:	33	Volumen de la revista:	1
Año de edición:	2017	Año de publicación:	2017
Páginas de:	146	a:	150
Palabra clave 1:	Xyleborus	Palabra clave 2:	Aguacate
		Palabra clave 3:	Colima

Áreas de conocimiento

Área:	Biología y química	Campo:	Ciencias de la vida
Disciplina:	Biología de insectos (Entomología)	Subdisciplina:	Entomología general

¿Recibió apoyo CONACYT?: No

CONACYT

Coautores

Coautor	Origen	Rol participación
PATRICIA TAMEZ GUERRA	MANUAL	Autor
JESUS ENRIQUE CASTREJON ANTONIO	MANUAL	Autor

Publicación de artículos

ISSN impreso: 01471724		ISSN electrónico: 21622647	
Nombre: Southwestern Entomologist			
País: United States of America			
Título del artículo: Beauveria bassiana Blastospores Produced in Selective Medium Reduce Survival Time of Epilachna varivestis Mulsant Larvae			
Número de la revista: 42		Volumen de la revista: 1	
Año de edición: 2017		Año de publicación: 2017	
Páginas de: 203		a: 220	
Palabra clave 1: Beauveria bassiana	Palabra clave 2: Epilachna varivestis	Palabra clave 3: Blastospores	

Áreas de conocimiento

Área: Biología y química	Campo: Ciencias de la vida
Disciplina: Biología de insectos (Entomología)	Subdisciplina: Insecticidas

¿Recibió apoyo CONACYT?: No

Coautores

Coautor	Origen	Rol participación
PATRICIA TAMEZ GUERRA	MANUAL	Autor
JESUS ENRIQUE CASTREJON ANTONIO	MANUAL	Autor

Publicación de artículos

ISSN impreso: 00154040		ISSN electrónico: 19385102	
Nombre: Florida Entomologist			
País:			
Título del artículo: Infestation of Xyleborus volvulus (Fabricius) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Mangifera indica L. (Mangifera: Anacardiaceae) in			
Número de la revista: 101		Volumen de la revista: 4	
Año de edición:		Año de publicación: 2018	
Páginas de: 676		a: 679	
Palabra clave 1: Mango	Palabra clave 2: Xyleborus		Palabra clave 3: Colima

Áreas de conocimiento

Área: Ciencias agropecuarias y biotecnología	Campo: Ciencias agrarias
Disciplina: Agronomía	Subdisciplina: Parasitología vegetal

¿Recibió apoyo CONACYT?: No

CONACYT

Coautores

Coautor	Origen	Rol participación
JESUS ENRIQUE CASTREJON ANTONIO	MANUAL	Autor
ROBERTO MONTESINOS MATIAS	MANUAL	Autor
PATRICIA TAMEZ GUERRA	MANUAL	Autor
LUCIA FUENTES GUARDIOLA	MANUAL	Autor
HUGO CESAR ARREDONDO BERNAL	MANUAL	Autor
BRUNO LAUREANO AHUELICAN	MANUAL	Autor

Patentes

Nombre o título: MEDIO SELECTIVO PARA INDUCIR LA PRODUCCION DE ENZIMAS DEGRADADORAS DE LA CUTICULA DE INSECTOS POR HONGO		
Tipo de patente: Patente como invención		
Estado de patente: Dictamen de conclusión - concesión		Número de trámite:
Fecha de solicitud: 03/jul/2013	Fecha de registro: 28/jun/2017	Expediente: 348949
Clasificación internacional de patentes: Química; metalurgia		
Resumen: Se describe la preparación de un medio selectivo para inducir la producción de enzimas degradadoras de cutícula a partir de hongos entomopatógenos.		
¿Explotación industrial?		¿Quién lo explota?
No		
Año de publicación: 2017		País: México

Participantes

PATRICIA TAMEZ GUERRA
JESUS ENRIQUE CASTREJON ANTONIO

Participación en congresos

Nombre del congreso: XI REUNION NACIONAL DE ESTUDIANTES DE FARMACIA		
Título del trabajo: FRECUENCIA Y PATRON DE SUSCEPTIBILIDAD A STAPHYLOCOCCUS AUREUS A DIVERSOS ANTIBIOTICOS EN PACIENTES		
Título de participación congreso: Póster		
Fecha: 01/ene/2006		País: México
Palabra clave 1:	Palabra clave 2:	Palabra clave 2:

Colaboradores

Nombre: OSCAR ALBERTO NEWTON SANCHEZ
Sexo:

CONACYT

Participación en congresos

Nombre del congreso: XLIX CONGRESO NACIONAL DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS

Título del trabajo: PARTICIPACION DE CALCINEURINA EN HIPERTROFIA CARDIACA FUNCIONAL DESARROLLADA DURANTE LA PREÑEZ

Título de participación congreso: Póster

Fecha: 01/ene/2006

País: México

Palabra clave 1:

Palabra clave 2:

Palabra clave 2:

Colaboradores

Nombre: J. JESUS MUÑOZ LOPEZ

Sexo:

Nombre: ADOLFO VIRGEN ORTIZ

Sexo:

Participación en congresos

Nombre del congreso: CONGRESO NACIONAL DEL XI VERANO DE LA INVESTIGACION CIENTIFICA DEL PACIFICO

Título del trabajo: FRECUENCIA Y PATRON DE SUSCEPTIBILIDAD A STAPHYLOCOCCUS AUREUS A DIVERSOS ANTIBIOTICOS EN PACIENTES

Título de participación congreso: Póster

Fecha: 01/ene/2006

País: México

Palabra clave 1:

Palabra clave 2:

Palabra clave 2:

Colaboradores

Nombre: OSCAR ALBERTO NEWTON SANCHEZ

Sexo:

Participación en congresos

Nombre del congreso: XIX CONGRESO PANAMERICANO DE FARMACIA

Título del trabajo: FRECUENCIA Y PATRON DE SUSCEPTIBILIDAD A STAPHYLOCOCCUS AUREUS A DIVERSOS ANTIBIOTICOS EN PACIENTES

Título de participación congreso: Póster

Fecha: 01/ene/2006

País: México

Palabra clave 1:

Palabra clave 2:

Palabra clave 2:

Colaboradores

Nombre: OSCAR ALBERTO NEWTON SANCHEZ

Sexo:

Participación en congresos

Nombre del congreso: XXXII CONGRESO ANUAL DE LA ASOCIACION MEXICANA DE INFECTOLOGIA Y MICROBIOLOGIA CLINICA

Título del trabajo: PREVALENCIA DEL FENOTIPO DE RESISTENCIA INDUCIDA A MACROLIDOS, LINCOSAMIDAS Y ESTREPTOGRAMINA B EN

Título de participación congreso: Póster

Fecha: 01/ene/2007

País: México

CONACYT

Palabra clave 1:

Palabra clave 2:

Palabra clave 2:

Colaboradores

Nombre: FABIAN ROJAS LARIOS

Sexo:

Nombre: YVAIN DELGADO SALINAS

Sexo:

Nombre: OSCAR NEWTON SANCHEZ

Sexo:

Nombre: FIDEL GUTIERREZ MARTINEZ

Sexo:

Nombre: ANGEL LEON RAMIREZ

Sexo:

Nombre: EDUARDO LLAUSAS MAGAÑA

Sexo:

Nombre: A. VILLASEÑOR SIERRA

Sexo:

Nombre: GERARDO MARTINEZ AGUILAR

Sexo:

Participación en congresos

Nombre del congreso: CXV JORNADAS NACIONALES DE CIENCIAS FARMACEUTICAS

Título del trabajo: EVALUACION DEL GRADO DE ATRACCION DEL 1-OCTEN-3-OL, L-ACIDO LACTICO, ACIDO LAURICO Y ACIDO PALMITICO

Título de participación congreso: Póster

Fecha: 01/ene/2008

País: México

Palabra clave 1:

Palabra clave 2:

Palabra clave 2:

Colaboradores

Nombre: RUTH RENDON RAMIREZ

Sexo:

Nombre: ELENA MARGARITA CASTRO

Sexo:

Participación en congresos

Nombre del congreso: XLIV CONGRESO NACIONAL DE ENTOMOLOGIA

Título del trabajo: EVALUACION DEL GRADO DE ATRACCION DE CAUTRO COMPONENTES DEL SUDOR HUMANO SOBRE EL MOSQUITO AEDES

CONACYT

Título de participación congreso: Ponencia

Fecha: 01/ene/2009

País: México

Palabra clave 1:

Palabra clave 2:

Palabra clave 2:

Colaboradores

Nombre: RUTH RENDON RAMIREZ

Sexo:

Nombre: ELENA MARGARITA CASTRO

Sexo:

Participación en congresos

Nombre del congreso: II SEMANA DEL BIOLOGO: "CHARLES DARWIN-ALFRED WALLACE"

Título del trabajo: EVALUACION DEL GRADO DE ATRACCION DEL 1-OCTEN-3-OL, L-ACIDO LACTICO, ACIDO LAURICO Y ACIDO PALMITICO

Título de participación congreso: Póster

Fecha: 01/ene/2009

País: México

Palabra clave 1:

Palabra clave 2:

Palabra clave 2:

Colaboradores

Nombre: RUTH RENDON RAMIREZ

Sexo:

Nombre: ELENA MARGARITA CASTRO

Sexo:

Participación en congresos

Nombre del congreso: XLIV CONGRESO NACIONAL DE ENTOMOLOGIA

Título del trabajo: DISEÑO Y EVALUACION DE UNA TRAMPA CEBADA CON ATRAYENTES PARA AEDES AEDYPTI

Título de participación congreso: Ponencia

Fecha: 01/ene/2009

País: México

Palabra clave 1:

Palabra clave 2:

Palabra clave 2:

Colaboradores

Nombre: RUTH RENDON RAMIREZ

Sexo:

Nombre: ELENA MARGARITA CASTRO

Sexo:

Participación en congresos

Nombre del congreso: Biotechnology Summit 2012

Título del trabajo: ASSESSMENT OF CUTICLE-DEGRADING ENZYMES PRODUCTION BY BEAUVERIA BASSIANA (BALS.) VUILLEMIN IN LIQUID

CONACYT

Título de participación congreso: Póster

Fecha: 01/ene/2012

País: México

Palabra clave 1:

Palabra clave 2:

Palabra clave 2:

Colaboradores

Nombre: MARIA MAGDALENA IRACHETA CÂRDE

Sexo:

Nombre: GRICELDA NUÑEZ MEJIA

Sexo:

Nombre: FERNANDO TAMAYO MEJIA

Sexo:

Nombre: JAIME OCAMPO HERNÁNDEZ

Sexo:

Nombre: RICARDO GOMEZ FLORES

Sexo:

Nombre: PATRICIA TAMEZ GUERRA

Sexo:

Participación en congresos

Nombre del congreso: XXXVI Congreso de a Sociedad Mexicana de Control Biológico

Título del trabajo: IMPLEMENTO DE FRASCOS COPROLÓGICOS DE 3 PIEZAS EN LA CRÍA DE CONCHUELA DE FRIJOL EPILACHNA VARIVESTIS

Título de participación congreso: Póster

Fecha: 01/ene/2013

País: México

Palabra clave 1:

Palabra clave 2:

Palabra clave 2:

Colaboradores

Nombre: FERNANDO TAMAYO MEJIA

Sexo:

Nombre: JAIME OCAMPO HERNÁNDEZ

Sexo:

Nombre: PATRICIA TAMEZ GUERRA

Sexo:

Participación en congresos

Nombre del congreso: XXXVI Congreso de la Sociedad Mexicana de Control Biológico

Título del trabajo: EVALUACIÓN DE MEDIOS LÍQUIDOS COMO ALTERNATIVE AL EMPLEO DE CALDO DEXTROSE SABOURAUD EN LA

Título de participación congreso: Ponencia

CONACYT

Fecha: 01/ene/2013

País: México

Palabra clave 1:

Palabra clave 2:

Palabra clave 2:

Colaboradores

Nombre: PATRICIA TAMEZ GUERRA

Sexo:

Nombre: FERNÁNDO TAMAYO MEJIA

Sexo:

Nombre: JAIME OCAMPO HERNÁNDEZ

Sexo:

Participación en congresos

Nombre del congreso: 23rd Latin American Symposium at the 79th AMCA Annual Meeting

Título del trabajo: SYNERGIST EFFICACY OF S,S,S,-TRIBUTYLPHOSPOROTRITHIOATE (DEF) AND PIPERONYL BUTOXIDE (PBO) WITH

Título de participación congreso: Ponencia

Fecha: 01/ene/2013

País: México

Palabra clave 1:

Palabra clave 2:

Palabra clave 2:

Colaboradores

Nombre: ADRIANA FLORES

Sexo:

Nombre: WILFREDO ARQUE-CHUNDA

Sexo:

Nombre: JUAN BALLESTEROS

Sexo:

Nombre: JESUS DAVILA

Sexo:

Nombre: ADRIANA GONZALEZ

Sexo:

Nombre: LAURA MAYELA MONTES

Sexo:

Nombre: KENZY PEÑA

Sexo:

Nombre: JORGE RODRÍGUEZ

Sexo:

Nombre: SELENE GUTIERREZ**Sexo:****Nombre:** GUSTAVO PONCE**Sexo:**

Participación en congresos

Nombre del congreso: XXXVI Congreso de a Sociedad Mexicana de Control Biológico**Título del trabajo:** EVALUACIÓN DE 4 MEDIOS DE CULTIVO LÍQUIDO PARA LA PRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE BEAUVERIA BASSIANA EN**Título de participación congreso:** Ponencia**Fecha:** 01/ene/2013**País:** México**Palabra clave 1:****Palabra clave 2:****Palabra clave 2:**

Colaboradores

Nombre: PATRICIA TAMEZ GUERRA**Sexo:****Nombre:** FERNANDO TAMAYO MEJIA**Sexo:****Nombre:** JAIME OCAMPO HERNÁNDEZ**Sexo:**

Participación en congresos

Nombre del congreso: XVIII Congreso Internacional de la Organización de Farmacéuticos Ibero-latinoamericanos. Puerto Vallarta**Título del trabajo:** - Estudio sobre los tratamientos terapéuticos empleados por una muestra de personas enfermas por Chikungunya en el**Título de participación congreso:** Póster**Fecha:** 05/mar/2016**País:** México**Palabra clave 1:** Chikungunya**Palabra clave 2:** Colima**Palabra clave 2:** Farmacoterapia

Colaboradores

Nombre: Sandra Berenice Preciado Ceballos**Sexo:** Femenino**Nombre:** Ana Lilia Peraza Campos**Sexo:** Femenino

Participación en congresos

Nombre del congreso: XVIII Congreso Internacional de la Organización de Farmacéuticos Ibero-latinoamericanos**Título del trabajo:** - Errores de medicación en una muestra de personas tratadas para fiebre por Chikungunya en el estado de Colima**Título de participación congreso:** Póster**Fecha:** 05/abr/2016**País:** México

CONACYT

Palabra clave 1: Chikungunya

Palabra clave 2: Errores de medicación

Palabra clave 2: Colima

Colaboradores

Nombre: Ana Lilia Peraza Campos

Sexo: Femenino

Nombre: Sandra Berenice Preciado Ceballos

Sexo: Femenino

Participación en congresos

Nombre del congreso: XXXIX Congreso de la Sociedad Mexicana de Control Biológico

Título del trabajo: - Control Biológico del complejo ambrosial: Hongos Entomopatógenos

Título de participación congreso: Participante en mesa redonda

Fecha: 01/nov/2016

País: México

Palabra clave 1: Ambrosiales

Palabra clave 2: Control Biológico

Palabra clave 2: Hongos entomopatógenos

Colaboradores

Nombre: Hugo Cesar Arredondo Bernal

Sexo: Masculino

Nombre: Roberto Montesinos Matías

Sexo: Masculino

Nombre: Patricia Tamez Guerra

Sexo: Femenino

Participación en congresos

Nombre del congreso: XXXIX Congreso de la Sociedad Mexicana de Control Biológico

Título del trabajo: - Análisis multivariante como herramienta para la selección de aislamientos de Beauveria bassiana (Bals. -Criv.) Vuill.

Título de participación congreso: Ponencia

Fecha: 01/nov/2016

País: México

Palabra clave 1: Análisis multivariante

Palabra clave 2: Hongos entomopatógenos

Palabra clave 2: Selección

Colaboradores

Nombre: Patricia Tamez Guerra

Sexo: Femenino

Nombre: Hugo Cesar Arredondo Bernal

Sexo: Masculino

Nombre: Roberto Montesinos Matías

Sexo: Masculino

Participación en congresos

Nombre del congreso: Congreso Internacional de Nutrición y Dietética**Título del trabajo:** Relación entre las emociones y la alimentación de adolescentes del municipio de Saltillo, Coahuila, México**Título de participación congreso:** Póster**Fecha:** 06/may/2017**País:** México**Palabra clave 1:** Adolescentes**Palabra clave 2:** Correlación**Palabra clave 2:** Emociones

Colaboradores

Nombre: Juan Manuel Ballesteros Torres**Sexo:** Masculino

Participación en congresos

Nombre del congreso: Simposio Nacional de Parasitología Forestal**Título del trabajo:** Especies de Xyleborus (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) asociados a cultivos de aguacate en Colima, México.**Título de participación congreso:** Ponencia**Fecha:** 27/oct/2017**País:** México**Palabra clave 1:** Xyleborus**Palabra clave 2:** Colima**Palabra clave 2:** Aguacate

Colaboradores

Nombre: Roberto Montesinos Matías**Sexo:** Masculino**Nombre:** Miguel Angel Ayala Zermeño**Sexo:** Masculino**Nombre:** Nallely Acevedo Reyes**Sexo:** Femenino**Nombre:** Hugo Cesar Arredondo Bernal**Sexo:** Masculino**Nombre:** Angélica Berlanga Padilla**Sexo:** Femenino**Nombre:** Patricia Tamez Guerra**Sexo:** Femenino

Participación en congresos

Nombre del congreso: Simposio Nacional de Parasitología Forestal.**Título del trabajo:** Agentes antimicrobianos para el control biológico de escarabajos ambrosiales y sus simbiontes**Título de participación congreso:** Ponencia**Fecha:** 27/oct/2017**País:** México**Palabra clave 1:** Control Biológico**Palabra clave 2:** Ambrosiales**Palabra clave 2:** Simbiontes

CONACYT

Colaboradores

Nombre: Roberto Montesinos Matías

Sexo: Masculino

Nombre: Patricia Tamez Guerra

Sexo: Femenino

Nombre: Hugo Cesar Arredondo Bernal

Sexo: Masculino

Nombre: Marco Antonio Mellin Rojas

Sexo: Masculino

Participación en congresos

Nombre del congreso: primer simposio sobre investigación en especies ambrosiales en México, en el marco del LIII Congreso Nacional de

Título del trabajo: - Avances en el control biológico de escarabajos ambrosiales: hongos entomopatógenos e insectos entomófagos

Título de participación congreso: Ponencia

Fecha: 20/jun/2018

País: México

Palabra clave 1: Ambrosiales

Palabra clave 2: Control biologico

Palabra clave 2: Aguacate

Colaboradores

Nombre: Patricia Tamez Guerra

Sexo: Femenino

Nombre: Hugo Cesar Arredondo Bernal

Sexo: Masculino

Nombre: Roberto Montesinos Matías

Sexo: Masculino

Participación en congresos

Nombre del congreso: XLI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Control Biológico

Título del trabajo: Comparación de dos dietas artificiales para la cría de escarabajos ambrosiales

Título de participación congreso: Póster

Fecha: 09/nov/2018

País: México

Palabra clave 1: Ambrosiales

Palabra clave 2: Dieta artificial

Palabra clave 2: Cría

Colaboradores

Nombre: Roberto Montesinos Matías

Sexo: Masculino

Nombre: Hugo Cesar Arredondo Bernal

Sexo: Masculino

Nombre: Rosa García García

Sexo: Femenino

Nombre: Lucía Fuentes Guardiola

Sexo: Femenino

Nombre: Jorge Sánchez Gonzalez

Sexo: Masculino

Divulgación

Título del trabajo: ENERGIA ALMACENADA

Tipo de participación: Demostración

Tipo de evento:

Institución organizadora:

Dirigido a: Sector estudiantil

Fecha: 14/jun/2002

Tipo divulgación y difusión: Nacional

País:

Tipo de medio:

Palabra clave 1:

Palabra clave 2:

Palabra clave 2:

Notas periodísticas:

Productos

Otro

Divulgación

Título del trabajo: PREVALENCIA DEL FENOTIPO DE RESISTENCIA INDUCIDA A MACROLIDOS, LICOSAMIDAS Y ESTREPTOGRAMINAS B EN

Tipo de participación: Conferencia

Tipo de evento:

Institución organizadora:

Dirigido a: Sector estudiantil

Fecha: 23/oct/2007

Tipo divulgación y difusión: Nacional

País:

Tipo de medio:

Palabra clave 1:

Palabra clave 2:

Palabra clave 2:

Notas periodísticas:

Productos

Otro

Divulgación

Título del trabajo: IDENTIFICACION DE CEPAS DE HELICOBACTER PYLORI CON GENOTIPO CITOTOXICO EN PACIENTES PEDIATRICOS

CONACYT

Tipo de participación:	Conferencia	Tipo de evento:	
Institución organizadora:			
Dirigido a:	Sector estudiantil	Fecha:	12/ene/2009
Tipo divulgación y difusión:	Nacional	País:	
Tipo de medio:			
Palabra clave 1:	Palabra clave 2:	Palabra clave 2:	
Notas periodísticas:			

Productos
Otro

Divulgación			
Título del trabajo:	"LOS MOSQUITOS LAS PREFIEREN..."		
Tipo de participación:	Revista de divulgación	Tipo de evento:	
Institución organizadora:			
Dirigido a:	Público en general	Fecha:	01/jun/2009
Tipo divulgación y difusión:	Nacional	País:	
Tipo de medio:			
Palabra clave 1:	Palabra clave 2:	Palabra clave 2:	
Notas periodísticas:			

Productos
Otro

Divulgación			
Título del trabajo:	"HAY VIDA EN ...¿NUESTRO ESTOMAGO?"		
Tipo de participación:	Medio impreso	Tipo de evento:	
Institución organizadora:			
Dirigido a:	Público en general	Fecha:	01/mar/2010
Tipo divulgación y difusión:	Nacional	País:	
Tipo de medio:			
Palabra clave 1:	Palabra clave 2:	Palabra clave 2:	
Notas periodísticas:			

CONACYT

Productos

Otro

Divulgación

Título del trabajo: Aedes aegypti: su manejo integrado y las estrategias microbiológicas para su control

Tipo de participación: Conferencia

Tipo de evento: Conferencia

Institución organizadora: Universidad de Colima

Dirigido a: Sector estudiantil

Fecha: 23/ago/2017

Tipo divulgación y difusión: Nacional

País:

Tipo de medio: Otro

Palabra clave 1: Aedes aegypti

Palabra clave 2: Control microbiológico

Palabra clave 2: Manejo integrado de plagas

Notas periodísticas:

Productos

Ponencia

Divulgación

Título del trabajo: Farmacéutico en el contexto hospitalario ¿dónde estamos? y ¿hacia dónde vamos?

Tipo de participación: Conferencia

Tipo de evento: Conferencia

Institución organizadora: Universidad de Colima

Dirigido a: Sector estudiantil

Fecha: 25/sep/2017

Tipo divulgación y difusión: Nacional

País:

Tipo de medio: Otro

Palabra clave 1: Farmacéutico

Palabra clave 2: Farmacia Hospitalaria

Palabra clave 2: Atención farmacéutica

Notas periodísticas:

Productos

Ponencia

Divulgación

Título del trabajo: Deshabitación tabaquera: un área de oportunidad para el farmacéutico

Tipo de participación: Conferencia

Tipo de evento: Sector estudiantil

Institución organizadora: Universidad de Colima

Dirigido a: Sector estudiantil

Fecha: 31/may/2018

Tipo divulgación y difusión: Nacional

País:

Tipo de medio: Otro

Palabra clave 1: Farmacéutico

Palabra clave 2: Atención Farmacéutica

Palabra clave 2: Tabaco

Notas periodísticas:

Productos
Ponencia

Divulgación		
Título del trabajo: Medicamentos caducos, un problema que compete a todos		
Tipo de participación: Conferencia	Tipo de evento: Ponencia en congreso, seminario o simposio	
Institución organizadora: Universidad de Colima		
Dirigido a: Sector estudiantil	Fecha: 25/nov/2019	
Tipo divulgación y difusión: Nacional	País:	
Tipo de medio: Otro		
Palabra clave 1: Medicamentos caducos	Palabra clave 2: Desecho	Palabra clave 2: Buenas practicas
Notas periodísticas:		

Productos
Ponencia

Distinciones no CONACYT	
Nombre de la distinción: PREMIO ESTATAL DE LA JUVENTUD 2008 "GUSTAVO ALBERTO VAZQUEZ MONTES"	
Institución que otorgó premio o distinción:	
Año: 2009	País: México

Distinciones no CONACYT	
Nombre de la distinción: PREMIO PEÑA COLORADA	
Institución que otorgó premio o distinción:	
Año: 2009	País: México

Idioma
Idioma: English

Grado de dominio	
Grado de dominio:	Nivel de conversación: Intermedio
Nivel de lectura: Intermedio	Nivel de escritura: Básico
Fecha de evaluación: 29/oct/2015	¿Cuenta con certificación?
Documento probatorio:	
Puntos / porcentaje: 0	

CONACYT

Institución que otorgó certificado:

Idioma

Idioma: Spanish

Grado de dominio

Grado de dominio:		Nivel de conversación: Avanzado	
Nivel de lectura:	Avanzado	Nivel de escritura: Avanzado	
		¿Cuenta con certificación?	
Documento probatorio:			
Puntos / porcentaje:	0		
Institución que otorgó certificado:			



Nota científica
(Short communication)

ESPECIES DE *XYLEBORUS* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE)
ASOCIADOS A HUERTOS DE AGUACATE EN COLIMA, MÉXICO.

SPECIES OF *XYLEBORUS* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTIDAE)
RECORDED IN AVOCADO TREES IN COLIMA, MEXICO

JESÚS ENRIQUE CASTREJÓN-ANTONIO,¹ ROBERTO MONTESINOS-MATÍAS,^{2,*} NALLELY
ACEVEDO-REYES,³ PATRICIA TAMEZ-GUERRA,¹ MIGUEL ÁNGEL AYALA-ZERMEÑO,²
ANGÉLICA MARÍA BERLANGA-PADILLA² Y HUGO CÉSAR ARREDONDO-BERNAL²

¹ Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Unidad de Formulación de Biológicos.
Av. Pedro de Alba S/N, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garzas, C.P. 66455. Nuevo León, México

² Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. Km 1.5 Carretera Tecmán-Estación FFCC. Col. Tepeyac.
C.P. 28110. Tecmán, Colima, México.

³ Departamento de Entomología y Acarología. Unidad Integral de Servicios, Diagnóstico y Constatación, Km
37.5. Carr. Federal México-Pachuca, C.P. 55740. Tecamac, Edo. de México, México.

* Autor de correspondencia <montesinosroberto@yahoo.com.mx>

Recibido: 02/09/2016; aceptado: 07/02/2017

Editor responsable: Magdalena Cruz Rosales

Castrejón-Antonio, J. E., Montesinos-Matías, R., Acevedo-Reyes, N., Tamez-Guerra, P., Ayala-Zermeño, M. Á., Berlanga-Padilla, A. M. y Arredondo-Bernal, H. C. (2017) Especies de *Xyleborus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) asociados a huertos de aguacate en Colima, México. *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.), 33(1), 146-150.

Castrejón-Antonio, J. E., Montesinos-Matías, R., Acevedo-Reyes, N., Tamez-Guerra, P., Ayala-Zermeño, M. Á., Berlanga-Padilla, A. M., & Arredondo-Bernal, H. C. (2017) Species of *Xyleborus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytidae) recorded in avocado trees in Colima, Mexico. *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.), 33(1), 146-150.

RESUMEN. Se registra la presencia de tres especies de escarabajos ambrosiales del género *Xyleborus* (Curculionidae: Scolytinae) en árboles de aguacate (*Persea americana*) de Colima, México. Se trata de *Xyleborus affinis* Eichhoff, *X. volvulus* Fabricius, y *X. spinulosus* Blandford.

ABSTRACT. The presence of three ambrosia beetle species of *Xyleborus* genus (Curculionidae: Scolytinae) were recorded in avocado trees (*Persea americana*) from Colima, México; they were *Xyleborus affinis* Eichhoff, *X. volvulus* Fabricius, and *X. spinulosus* Blandford.

Durante los meses de septiembre de 2015 a marzo de 2016, personal técnico especializado del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB) realizaron prospecciones en huertas comerciales activas de aguacate en los municipios de Comala (Rancho de Agosto; 19.45965° N, -103.65603° W y Cofradía de Suchitlán; 19.251191° N, -103.43227 W), Manzanillo (Venustiano Carranza; 19.02663° N, -104.09755° W) y Minatitlán (El Arrayanal; 19.25156° N, -104.09676° W) en el estado de Colima, México; la búsqueda se realizó en más de una huerta en cada localidad. En la exploración de los tres mu-

nicipios se observaron árboles con coloración anormal en la corteza de la parte media e inferior del tronco, además de signos de marchites y pequeños orificios con virutas de aserrín (Fig. 1). Tras realizar cortes de estas secciones, se observaron galerías con la presencia de escarabajos adultos (Fig. 2) y sus diferentes estadios. Los individuos adultos fueron recolectados, montados, etiquetados y guardados en la Colección de Insectos del Departamento de Entomología y Acarología del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF) de la Dirección General de Sanidad Vegetal (SENASICA-SAGARPA), con los



Figura 1. Árbol de aguacate con presencia de virutas de aserrín en su corteza.

números de orden de servicio: 85478, 95323 y 111056; y Clave interna: 15P0040451, 16P0008206 y 17P0003086, respectivamente. Los escarabajos se identificaron con las claves taxonómicas descritas por Wood (1982), determinando a las siguientes tres especies de escarabajos ambrosiales: *Xyleborus affinis* Eichhoff (Comala, Manzanillo y Minatitlán), *X. volvulus* Fabricius (Manzanillo) y *X. spinulosus* Blandford (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) (Comala) (Fig. 3, 4 y 5).



Figura 2. Galerías de escarabajo en madera.

La subfamilia Scolytinae incluye a los escarabajos del género *Xyleborus*, que son considerados de importancia debido al impacto potencial que pueden tener algunas de sus especies sobre áreas forestales y agrícolas, la mayoría de ellos está asociada a la descomposición de árboles muertos o enfermos (Sobel *et al.* 2015). Estos escolítidos, comúnmente denominados como escarabajos ambrosiales, se caracterizan por su relación simbiótica y nutricional obligada con diversas especies de hongos que cultivan en las paredes de sus galerías, en el xilema del árbol hospedero (Carrillo *et al.* 2014, Hughes *et al.* 2015). El crecimiento de los hongos en el sistema vascular de los árboles vivos puede obstaculizar el flujo de agua y nutrientes, lo que ocasiona la muerte parcial o total de la planta en poco tiempo (Harrington *et al.* 2008).

Los escarabajos ambrosiales *Xyleborus affinis* y *X. volvulus* son especies de distribución cosmopolita, de hábitos polífagos, con más de 100 especies de plantas hospederas susceptibles de ataque bajo condiciones de estrés o enfermedad (Carrillo *et al.* 2014). Por otra parte, *X. spinulosus* tienen un rango de hospedero más restringido y su distribución se limita al continente americano (Wood, 2007). Aunque los escarabajos pudieran no representar un riesgo para la agricultura actual, existe evidencia de que *X. volvulus* es capaz de afectar árboles de cedro mexicano (*Cedrela odorata* L.) y árboles de cacao (*Theobroma cacao* L.) (Pérez-De la Cruz *et al.* 2009; Rangel *et al.* 2012). Las especies *X. affinis* y *X. volvulus* han sido reportadas en lauráceas de importancia económica como el aguacate (Carrillo *et al.* 2012). El establecimiento de relaciones simbióticas de los escarabajos ambrosiales con algunas

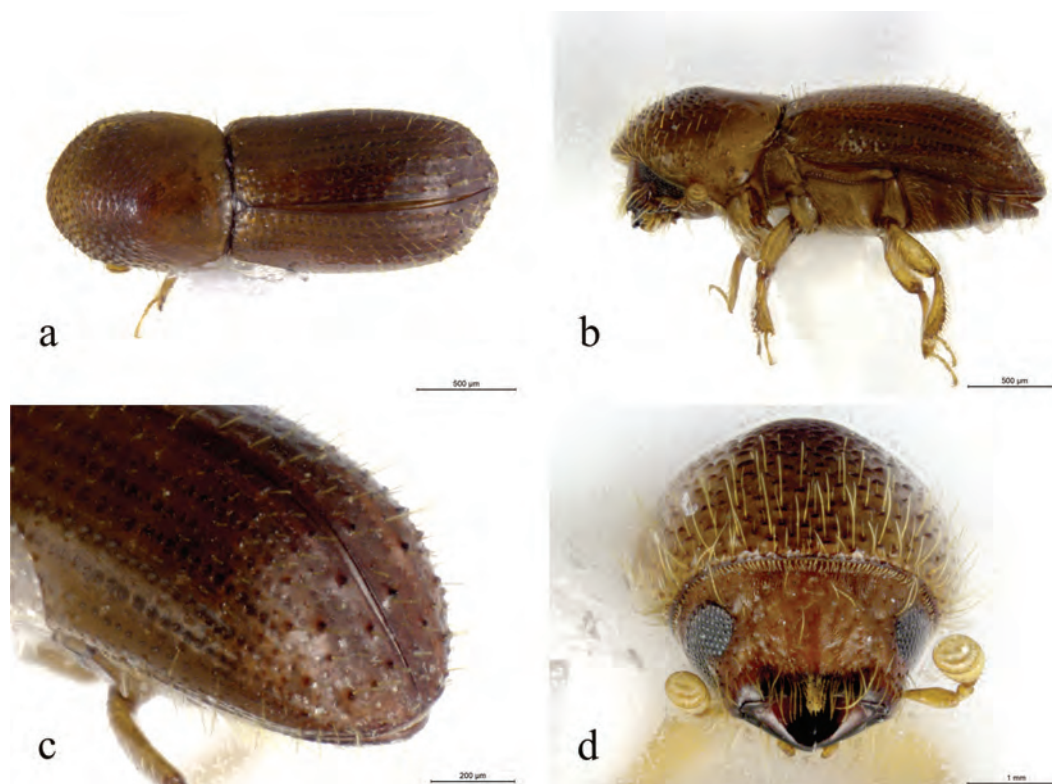


Figura 3. Hembra de *Xyleborus affinis* a) Dorsal; b) Lateral; c) Posterolateral; d) Frontal.

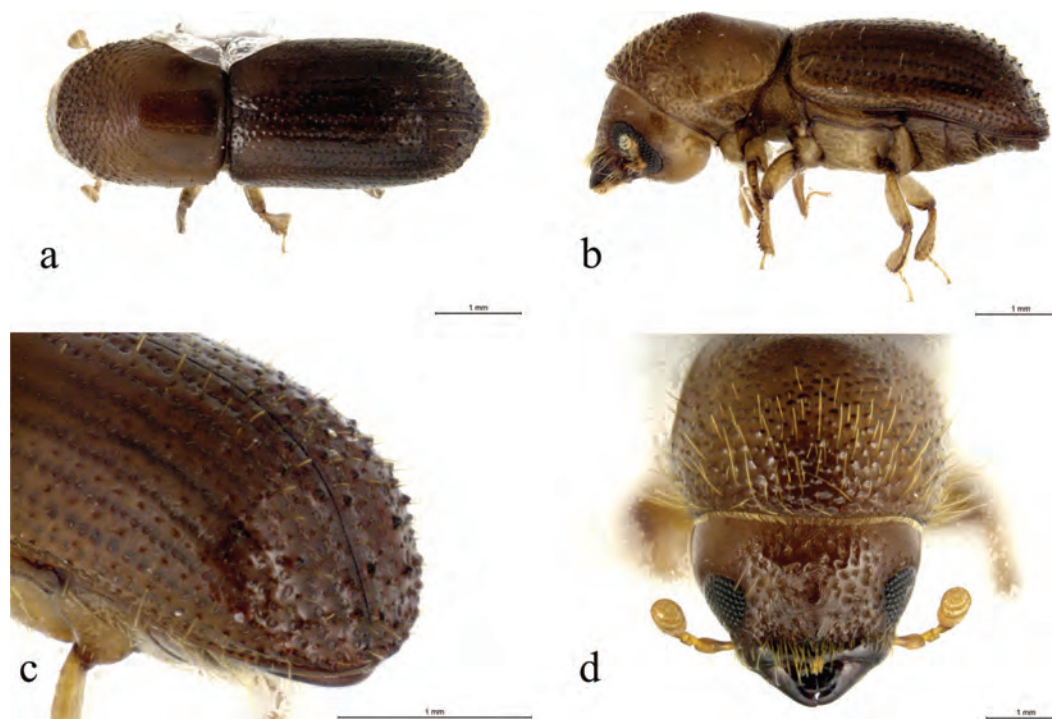


Figura 4. Hembra de *Xyleborus volvulus* a) Dorsal; b) Lateral; c) Posterolateral; d) Frontal.



Figura 5. Hembra de *Xyleborus spinulosus* a) Dorsal; b) Lateral; c) Posterolateral d) Frontal.

especies de hongos fitopatógenos es preocupante, ya que *X. affinis* y *X. volvulus* son capaces de portar a *Raffaelea lauricola* T.C. Harr., Fraedrich & Aghayeva (Ophistomatales: Ophistomataceae) (Harrington *et al.* 2008; Carrillo *et al.* 2014), responsable de la enfermedad de la marchitez del laurel, cuyo vector *Xyleborus glabratus* Eichhoff está afectando a las lauráceas en algunos estados del sureste de los Estados Unidos de América (EUA) (Hughes *et al.* 2015).

Pérez-Silva *et al.* (2015) a través de una consulta en colecciones entomológicas, con material colectado en campo y revisión de literatura, reportaron la presencia de *X. affinis* en 19 estados de México; *X. volvulus* en 21 y *X. spinulosus* en 9 estados. Ninguna de las tres especies se reportó para el estado de Colima, donde únicamente existen antecedentes de la presencia de *Xyleborus palatus* Wood; aunque Wood (1982) menciona que *X. affinis* y *X. volvulus* se encuentran en todos los estados de nuestro país.

El presente reporte, contribuye al inventario de especies de Pérez-Silva *et al.* (2015) y proporciona evidencia

a lo mencionado por Wood (1982), además de que apoya a nutrir la escasa información que se tiene para el estado de Colima con respecto a los escarabajos ambrosiales, denotando la presencia de especies que son consideradas vectores potenciales de *R. lauricola*, por lo que su monitoreo debe ser fortalecido tomando en consideración que su identificación se realizó a partir de árboles de aguacate en producción.

Dentro de las expectativas de este trabajo se plantea la identificación del hongo u hongos simbioses en cada una de las especies de *Xyleborus* reportadas, con la intención de diseñar estrategias de prevención y saneamiento sobre el cultivo de aguacate, en caso de representar un problema fitosanitario.

AGRADECIMIENTOS. Al Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de Colima (CESAVECOL), al Ing. Celerino Rodríguez Arreola, Ing. Alejandro Figueroa García e Ing. Jesús Méndez Ramírez por las facilidades proporcionadas para el acceso a las huertas de aguacate. Además, al Ing. Rigoberto González Gómez y M.C. Bruno Lauera-no Ahuelicán del área de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria del

Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria de la Dirección General de Sanidad Vegetal, SENASICA, por su apoyo durante las exploraciones en huertos de aguacate en el estado de Colima.

LITERATURA CITADA

- Carrillo, D., Duncan, R. & Peña, J.** 2012. Ambrosia Beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) that Breed in Avocado Wood in Florida. *Florida Entomologist*, 95, 573-579.
- Carrillo, D., Dunca, R., Ploetz, R., & Peña, J. E.** 2014. Ambrosia beetles associated with laurel wilt-affected avocados. *En: A. Mendez-Bravo (Presidencia), Simposio internacional sobre manejo y control de plagas cuarentenarias en el aguacatero*. Xalapa, Veracruz, México.
- Harrington, T., Fraedrich, S., & Aghayeva, D.** 2008. *Raffaelea lauricola* a new ambrosia beetle symbiont and pathogen on the Lauraceae. *Mycotaxon*, 104, 399-404.
- Hughes, M. A., Smith, J. A., Ploetz, R. C., Kendra, P. E., Mayfield A. E., III, Hanula, J. L., Hulcr, J., Stelinski, L. L., Cameron, S., Riggins, J. J., Carrillo, D., Rabaglia, R., Eickwort, J., & Pernas, T.** 2015. Recovery plan for laurel wilt on redbay and other forest species caused by *Raffaelea lauricola* and disseminated by *Xyleborus glabratus*. *Plant Health Progress*, 16, 173-210.
- Pérez-De La Cruz, M., Equihua-Martínez, A., Romero-Nápoles, J., Valdez-Carrasco, J. & De La Cruz Pérez, A.** 2009. Claves para la identificación de escolítinos (Coleopteros: Curculionidae: Scolitinae) asociados al agroecosistema de cacao en el sur de México. *Boletín del Museo de Entomología la Universidad del Valle*, 10, 14-29.
- Pérez-Silva, M., Equihua-Martínez, A., Estrada-Venegas, E. G., Muñoz-Viveros, A. L., Valdez-Carrasco, J. M., Sánchez-Escudero, J., & Atkinson, T. H.** 2015. Sinopsis de especies mexicanas del género *Xyleborus* Eichhoff, 1864 (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Acta Zoológica Mexicana, (n.s.)*, 31, 239-250.
- Rangel, R., Pérez, M., Sánchez, S. & Capello, S.** 2012. Fluctuación poblacional de *Xyleborus ferrugineus* y *X. affinis* (Coleoptera: Curculionidae) en ecosistemas de Tabasco, México. *Revista de Biología Tropical*, 60, 1577-1588.
- Sobel, L., Lucky, A., & Hulcr J.** 2015. An Ambrosia Beetle *Xyleborus affinis* Eichhoff, 1868 (Insecta: Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Entomology and Nematology. UF/IFAS Extension*, EENY 627, 1-4.
- Wood, S. L.** 1982. The bark and ambrosia beetles of North and Central America (Coleoptera:Scolytinae). A taxonomic monograph. *Great Basin Naturalis Memoirs*, 6, 1-1356.
- Wood, S. L.** 2007. *Bark and Ambrosia Beetles of South America (Coleoptera: Scolytidae)*. Monte L. Bean Science Museum, Provo, Utah, 1-900.

Infestation of *Xyleborus volvulus* (Fabricius) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in *Mangifera indica* L. (Mangifera: Anacardiaceae) in Manzanillo, Colima

Authors: Jesús E. Castrejón-Antonio, Roberto Montesinos-Matías, Patricia Tamez-Guerra, Lucía T. Fuentes Guardiola, Bruno Laureano-Ahuelican, et. al.

Source: Florida Entomologist, 101(4) : 676-679

Published By: Florida Entomological Society

URL: <https://doi.org/10.1653/024.101.0405>

BioOne Complete (complete.BioOne.org) is a full-text database of 200 subscribed and open-access titles in the biological, ecological, and environmental sciences published by nonprofit societies, associations, museums, institutions, and presses.

Your use of this PDF, the BioOne Complete website, and all posted and associated content indicates your acceptance of BioOne's Terms of Use, available at www.bioone.org/terms-of-use.

Usage of BioOne Complete content is strictly limited to personal, educational, and non-commercial use. Commercial inquiries or rights and permissions requests should be directed to the individual publisher as copyright holder.

BioOne sees sustainable scholarly publishing as an inherently collaborative enterprise connecting authors, nonprofit publishers, academic institutions, research libraries, and research funders in the common goal of maximizing access to critical research.

Infestation of *Xyleborus volvulus* (Fabricius) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in *Mangifera indica* L. (Mangifera: Anacardiaceae) in Manzanillo, Colima

Jesús E. Castrejón-Antonio¹, Roberto Montesinos-Matías^{2,*}, Patricia Tamez-Guerra¹, Lucía T. Fuentes Guardiola², Bruno Laureano-Ahuelican³, and Hugo C. Arredondo-Bernal²

Ambrosia beetles are a natural part of the wood decomposition processes in ecosystems; however, some exotic species can cause serious problems in economically important crops, or seriously threaten native plant species (Sobel et al. 2015). Outstanding examples confirming this are the introduction of *Xyleborus glabratus* Eichhoff (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) and *Euwallacea* sp. (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) ambrosia beetles (Pisani et al. 2015), native to Asia, but introduced into the USA near Savannah, Georgia. This has resulted in the death of more than 500 million trees of the family Lauraceae (Peña et al. 2012), including avocado trees, *Persea americana* Miller (Lauraceae). These beetles are characterized by their symbiotic and nutritional relationship with fungi that grow on the walls of their galleries, which are located in the xylem of host trees (Hughes et al. 2015). The fungal growth inside the vascular system of living trees hinders the flow of water and nutrients, resulting in injury or mortality of many host plant species in a short period of time (Fraedrich et al. 2008). The *X. glabratus* beetle transmits the fungus *Raffaelea lauricola* TC Harr., Fraedrich & Aghayeva (Ophiostomatales: Ophiostomataceae), that causes an affliction known as laurel wilt disease (Harrington et al. 2008). A second exotic species is the polyphagous shot hole borer *Euwallacea* sp., an ambrosia beetle that transmits the fungi *Fusarium euwallaceae* (S. Freeman, Z. Mendel, T. Aoki & O'Donnell), *Graphium euwallaceae* (Twizayimana, S.C. Lynch & Eskalen), and *Acremonium pembeum* (S. C. Lynch & Eskalen) that commonly cause "fusarium die-back" in many plant species.

The presence of *E. nr. fornicatus* has been reported in host plants throughout the city of Tijuana, Baja California, Mexico (García-Avila et al. 2016). However, the presence of *X. glabratus* has not been reported in Mexico (SENASICA 2017).

In relation to the *X. glabratus* symbiont, *R. lauricola* can be carried by secondary vectors, thus facilitating the spread of the dis-

ease. Among the secondary vectors, *X. volvulus* (Eichhoff) stands out because in laboratory tests it has been demonstrated that it can transmit *R. lauricola* to avocado. Thus, the possibility of this occurring in the field cannot be discarded (Carrillo et al. 2014). Recently, the presence of *X. volvulus* was observed in avocado trees in Colima, Mexico (Castrejón-Antonio et al. 2017), and another report indicates its ability to infest Mexican cedar trees (*Cedrela odorata* L.) and cacao (*Theobroma cacao* L.) (Pérez-De la Cruz et al. 2009; Rangel et al. 2012).

Since Apr 2015, periodic observations have been made in a mango orchard (*Mangifera indica* L., var 'Ataulfo') (Anacardiaceae) in association with avocado (var 'Mendez') in Manzanillo, Colima, Mexico (19.02663°N, 104.09755°W, 23 m asl); the avocados were felled in Mar 2016 after being damaged by ambrosia beetles (Castrejón-Antonio et al. 2017). In Apr 2017, during a survey in the same orchard, mango trees with leaf wilt throughout the canopy, ambrosia beetle galleries and frass on the main trunk were observed (Fig. 1). Pieces of wood were collected and placed in emergence chambers (26 °C, 60% RH, 14:10 [L:D] photoperiod). The insects that emerged from the wood were collected, assembled, labeled, and sent to the Departamento de Entomología y Acarología del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF) de la Dirección General de Sanidad Vegetal (SENASICA-SAGARPA) for identification. The beetles were identified using the taxonomic keys described by Wood (1982), as *Hypocryphalus mangiferae* Stebbing and *Xyleborus volvulus* F. (Fig. 2).

The mango tree is known to be a host of *X. volvulus* (Atkinson 2017); however, damage by this beetle had not been reported previously in Mexico. The case described here demonstrates the susceptibility of the mango tree to *X. volvulus*. Furthermore, this particular case also demonstrates that ambrosia beetles can infest 1 host tree species and migrate to other host species trees in a 2-cultivar orchard.

¹Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Unidad de Formulación de Biológicos, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, Mexico; E-mail: jeca4697@gmail.com (J. E. C. A.); patricia.tamezgr@uanl.edu.mx (P. T. G.)

²Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRF-DGSV-SENASICA) Tecomán, Colima, Mexico; E-mails: montesinosroberto@yahoo.com.mx (R. M. M.); lucia_06_18@hotmail.com (L. T. F. G.); hugo.arredondo@senasica.gob.mx (H. C. A. B.)

³Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria, Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, CNRF-DGSV-SENASICA, Tecámac, Estado de Mexico, Mexico; E-mail: bruno_laureano@yahoo.com.mx (B. L. A.)

*Corresponding author; E-mail: montesinosroberto@yahoo.com.mx



Fig. 1. Ambrosia beetle galleries on a mango tree trunk.

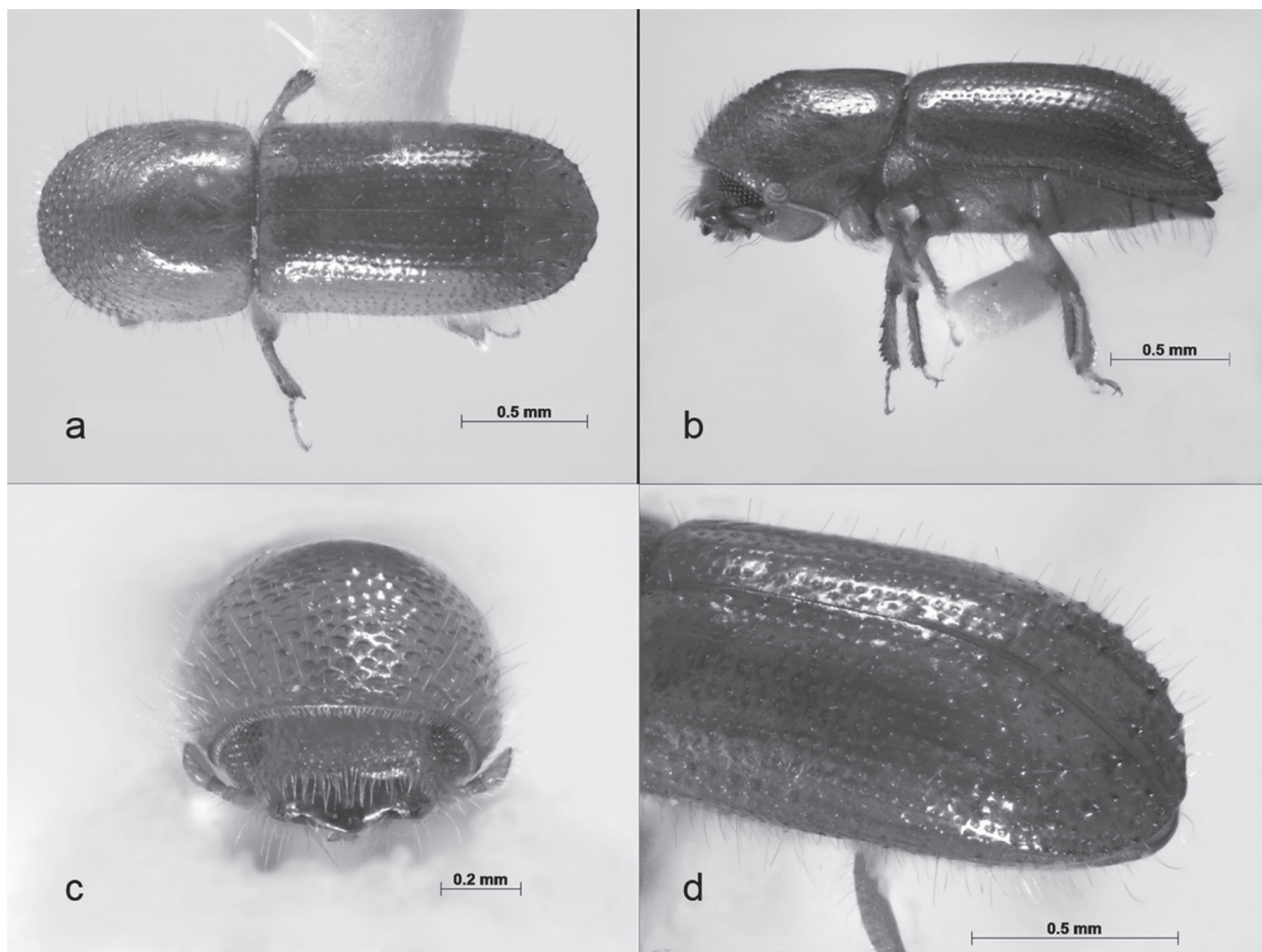


Fig. 2. *Xyleborus volvulus* found infesting a mango tree: (a) dorsal; (b) lateral; (c) frontal; (d) posterolateral.

Summary

Xyleborus volvulus is a polyphagous beetle that can carry *Raffaelea lauricola*, a phytopathogenic fungus that causes laurel wilt disease. In Mexico, the insect has been associated with damage to cedar, cacao, and avocado plantations. Here, we report mango trees infested by *X. volvulus* in a mango orchard with a history of having avocado trees were removed due to infestation by *X. volvulus*.

Key Words: ambrosia beetles; mixed orchard; *Hypocryphalus mangiferae*

Sumario

Xylevorus volvulus es un escarabajo polífago con capacidad de transportar a *Raffaelea lauricola*, el hongo fitopatógeno causante de la Marchitez del Laurel Rojo. En México el insecto se ha asociado con daño en plantaciones de cedro, cacao y aguacate. En este trabajo se reporta la presencia de árboles de mango infestados por *X. volvulus*, en una huerta de mango con antecedentes de haber estado combinado con árboles de aguacate, los cuales fueron derrumbados por presentar infestación por la misma especie de escarabajo.

Palabras Clave: escarabajos ambrosiales; cultivos mixtos; *Hypocryphalus mangiferae*

Acknowledgments

To “Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de Colima (CE-SAVECOL)” for providing facilities and access to vegetable gardens; to Ing. Rigoberto González Gómez and Biol. Nallely Acevedo Reyes of “Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (Dirección General de Sanidad Vegetal- SENASICA)” for their support identifying beetle samples; and finally the authors also would like to thank Jr. Spec. Adrian Poloni for suggestions to improve the manuscript.

References Cited

- Atkinson RT. 2017. *Xyleborus volvulus* (Eichhoff 1868). Bark and ambrosia beetles of North and Central America. http://www.barkbeetles.info/regional_chklist_target_species.php?lookUp=2046 (last accessed 30 Oct 2017).
- Carrillo D, Duncan RE, Ploetz JN, Campbell AF, Ploetz RC, Peña JE. 2014. Lateral transfer of a phytopathogenic symbiont among native and exotic ambrosia beetles. *Plant Pathology* 63: 54–62.

- Castrejón-Antonio JE, Montesinos-Matías R, Acevedo-Reyes N, Tamez-Guerra P, Ayala-Zermeño MA, Berlanga-Padilla A, Arredondo-Bernal HC. 2017. Especies de *Xyleborus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) asociados a huertos de aguacate en Colima, México. *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.) 33: 146–150.
- Fraedrich SW, Harrington TC, Rabaglia RJ, Ulyshen MD, Mayfield AE, Hanula JL, Eickwort JM, Miller DR. 2008. A fungal symbiont of the redbay ambrosia beetle causes a lethal wilt in redbay and other Lauraceae in the southeastern United States. *Plant Diseases* 92: 215–224.
- García-Avila CJ, Trujillo-Arriaga FJ, Lopez-Buenfil JA, González-Gómez R, Carrillo D, Cruz LF, Ruíz-Galvan I, Quezada-Salinas A, Acevedo-Reyes N. 2016. First report of *Euwallacea* nr. *forficatus* (Coleoptera:Curculionidae) in Mexico. *Florida Entomologist* 99: 555–556.
- Harrington T, Fraedrich S, Aghayeva D. 2008. *Raffaelea lauricola* a new ambrosia beetle symbiont and pathogen on the Lauraceae. *Mycotaxon* 104: 399–404.
- Hughes MA, Smith JA, Ploetz RC, Kendra PE, Mayfield AE III, Hanula JL, Hulcr J, Stelinski LL, Cameron S, Riggins JJ, Carrillo D, Rabaglia R, Eickwort J, Pernas T. 2015. Recovery plan for laurel wilt on redbay and other forest species caused by *Raffaelea lauricola* and disseminated by *Xyleborus glabratus*. *Plant Health Progress* 16: 173–210.
- Peña JE, Carrillo D, Duncan R. 2012. Susceptibility of *Persea* spp and other Lauraceae to attack by redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Florida Entomologist* 95: 783–787.
- Pérez-De La Cruz M, Equihua-Martínez A, Romero-Nápoles J, Valdez-Carrasco J, De La Cruz Perez A. 2009. Claves para la identificación de escolítinos (Coleopteros: Curculionidae: Scolytinae) asociados al agroecosistema de cacao en el sur de México. *Boletín del Museo de Entomología la Universidad del Valle* 10: 14–29.
- Pisani C, Ploetz RC, Stover E, Ritenour MA, Scully B. 2015. Laurel wilt in avocado: review of an emerging disease. *International Journal of Plant Biology & Research* 3: 1043–1049.
- Rangel R, Pérez M, Sánchez S, Capello S. 2012. Fluctuación poblacional de *Xyleborus ferrugineus* y *X. affinis* (Coleoptera: Curculionidae) en ecosistemas de Tabasco, México. *Revista de Biología Tropical* 60: 1577–1588.
- SENASICA. 2017. Escarabajo ambrosia del Laurel rojo (*Xyleborus glabratus*). Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria-Dirección General de Sanidad Vegetal-Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. Ciudad de México. Ficha Técnica No. 48, 1ra edición 2014.
- Sobel L, Lucky A, Hulcr J. 2015. An ambrosia beetle *Xyleborus affinis* Eichhoff, 1868 (Insecta: Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Entomology and Nematology. UF/IFAS Extension EENY* 627: 1–4.
- Wood SL. 1982. The bark and ambrosia beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytinae). A taxonomic monograph. *Great Basin Naturalis Memoirs* 6: 1–1356.